

Masteroppgave i kjemi

Caroline Riddervold

**Bruk av SPE-SCX
kolonner for bestemmelse
av fritt og totalt metall i
humusholdige vannprøver
med ICP-MS/AES**

KJEMISK INSTITUTT

Det matematisk-naturvitenskapelige
fakultet

UNIVERSITETET I OSLO 12/2007



FORORD

Endelig er masteroppgaven ferdig! Oppgaven er utført i tidsrommet januar 2006 – desember 2007, ved kjemisk institutt, Universitetet i Oslo. Det har blitt lagt ned mye arbeid, og det er en god følelse å legge studiene bak seg.

Jeg ønsker å takke veilederen min Walter Lund, for all hjelpen jeg har fått underveis.

Takk til Rolf Vogt som skaffet vannprøver og humus.

Jeg ønsker også å takke alle som har hjulpet meg med praktiske ting, instrument- og dataproblemer, korrekturlesing og alle som har gjort studiene på Blindern sosialt og koselig.

Oslo, desember 2007

Caroline Riddervold

INNHold

FORORD	1
INNHold	3
SAMMENDRAG.....	7
FORKORTELSER.....	9
1. INTRODUKSJON	11
1.1 SPE	11
1.2 Spesiering og fraksjonering	13
1.3 Humus og metall-humus komplekser	15
1.3.1 RO-isolater	16
1.4 Hensikt.....	16
2. EKSPERIMENTELT	19
2.1 Instrument.....	19
2.1.1 Instrumentparametere	20
2.1.2 Daglig test	21
2.2 Utstyr	21
2.3 Vannkvaliteter.....	22
2.4 Vask av utstyr	23
2.5 Kalibrering av pipetter	23
2.6 Kjemikalier og standarder	23
2.7 Kalibreringsløsninger	25
2.8 Prøver	25
2.8.1 Spiking med metaller.....	25
2.8.2 Prøvevolum og elueringsvolum	25
2.8.3 Buffer	26
2.8.4 Humus	26
2.8.5 Naturlige vannprøver og RO isolater.....	26
2.8.6 Matriks matching med HNO ₃	27

2.8.7	Blindprøver.....	27
2.8.8	Surgjøring av prøvene med HNO ₃	28
2.9	Valideringsparametere.....	28
2.9.1	Nøyaktighet	28
2.9.2	Presisjon	28
2.9.3	Linearitet	29
2.9.4	Deteksjon- og kvantifiseringsgrenser.....	29
3.	RESULTATER OG DISKUSJON.....	31
3.1	Kort beskrivelse av metodeutvikling	31
3.2	Valg av SPE-kolonner.....	31
3.3	Kvantitativ bestemmelse med ICP-MS og ICP-AES.....	32
3.3.1	Valg av isotoper og bølgelengder	32
3.3.2	Drift i instrumentene.....	34
3.4	SPE-kolonnenes evne til å binde metaller	35
3.5	Bond Elut Jr fra Varian.....	35
3.5.1	Mengde metaller i Bond Elut Jr fra Varian.....	35
3.5.2	Eluering av Bond Elut Jr fra Varian.....	36
3.6	IC-Na fra Alltech	38
3.6.1	Mengde metaller i IC-Na fra Alltech.....	38
3.6.2	Eluering av IC-Na fra Alltech.....	38
3.7	Gjennomstrømningshastighet	39
3.7.1	Gjennomstrømningshastighet – effekt ved eluering	39
3.7.2	Gjennomstrømningshastighet – effekt ved binding til SPE-kolonnene	41
3.8	Endring av elueringsvolum.....	43
3.9	Tilsetting av humus i prøvene.....	44
3.9.1	Kompleksdannelse - effekten av tid og effekten av å endre humus konsentrasjon.....	44
3.9.2	Mengde karbon i HA-stamløsning.....	46
3.9.3	Binding av totalt metall til SPE-kolonnene.....	46
3.9.4	Forbehandling av SPE-kolonnene	47
3.9.5	Hydrogenkarbonatbuffer og Ca, Mg og Na i prøvene.....	49
3.10	Langtjern.....	52
3.11	Sammenlikning av Humic Acid og RO-isolater.....	54
3.12	Oppkonsentrering	56

3.12.1	Effekten av mye syre på SPE-kolonnene	58
3.12.2	Oppkonsentrering av prøver med humus og effekten av sprøytefilter før SPE	60
3.12.3	Metode for oppkonsentrering	61
3.13	Validering	62
3.13.1	Valideringsprøver	62
3.13.2	Nøyaktighet	63
3.13.3	Presisjon	65
3.13.4	Linearitet	65
3.13.5	Deteksjon- og kvantifiseringsgrenser	66
3.14	Bruk av polymerbaserte SPE-kolonner og sammenlikning med Bond Elut Jr	67
KONKLUSJON.....		71
REFERANSER.....		73
INNHold APPENDIKS.....		77

SAMMENDRAG

Fast fase ekstraksjon (SPE) med kommersielle engangskolonner er en rask, enkel og billig metode for separasjon og oppkonsentrering. Hensikten med oppgaven er å se på forskjellige måter SPE-kolonner kan brukes på og utvikle en metode som kan brukes på naturlige vannprøver i feltarbeid.

Det ble sett på separasjon av fritt metall og bundet metall, samling av totalt metall i en naturlig vannprøve på en SPE-kolonne og oppkonsentrering av metall i en naturlig vannprøve på en SPE-kolonne. I denne forbindelse ble det undersøkt en rekke parametere. Hvor mye metall som bindes til SPE-kolonnen, hvor mye metall det er i SPE-kolonnen fra produksjon, beste elueringsmiddel, gjennomstrømningshastighet til prøve, gjennomstrømningshastighet til elueringsmiddel, elueringsvolum, forbehandling av SPE-kolonnen, tilsetning av humus til prøvene, effekten av å surgjøre prøve, og om SPE-kolonnen kan brukes til oppkonsentrering. Det ble i løpet av arbeidet forsøkt å bruke 3 forskjellige SPE-kolonner, alle sterke kationbyttere. Bond Elut Jr fra Varian viste seg å fungere best.

I starten ble det brukt syntetiske vannprøver laget av singel- og multielementstandarder. Acetatbuffer ble brukt for å justere pH. Etter hvert ble en naturlig vannprøve analysert og de syntetiske prøvene tilsatt forskjellig type humus, for å lage en prøve som likner mest mulig en naturlig vannprøve. Metallene som det ble analysert på var Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb og V. ICP-MS og ICP-AES ble brukt til analysene.

Det ble laget 2 metoder. En metode for å samle totalt metall på en SPE-kolonne ved å tilsette 0,1 M HNO₃ til prøvene og eluere med 20 mL 1 M HNO₃. I den andre metoden oppkonsentreres metall på en SPE-kolonne ved å tilsette 0,01 M HNO₃ til 1000 mL prøve og eluere med 10 mL 1 M HNO₃. Metoden for å samle totalt metall på en SPE-kolonne ble validert. Den viste at recovery for metoden var på 71,9-101,2 %, for de fleste av metallene rundt 90 % recovery.

FORKORTELSER

CRM	Sertifisert referanse materiale
DA	Dalton
DOC	Løst organisk karbon
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
HA	Humic Acid
HNO ₃	Salpetersyre
ICP-AES	Induktivt koplet plasma-atomemisjonsspektrometri
ICP-MS	Induktivt koplet plasma-massespektrometri
LOD	Deteksjonsgrense
LOQ	Kvantifiseringsgrense
meq	Milliekvivalenter
NOM	Naturlig organisk materiale
POC	Partikulært organisk karbon
RO	Omvendt osmose
RSD	Relativt standardavvik
SD	Standardavvik
SCX	Sterk kationbytter
SPE	Fast fase ekstraksjon
TOC	Total organisk karbon

1. INTRODUKSJON

1.1 SPE

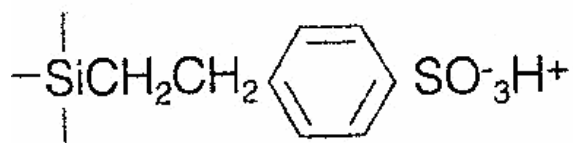
SPE står for solid phase extraction eller fast fase ekstraksjon på norsk. Fordelene med bruk av SPE-kolonner er at det kan brukes små prøvevolumer, er en effektiv, enkel, rask og økonomisk separasjons- og oppkonsentreringsteknikk (Saracoglu et al., 2002).

I fast fase ekstraksjon blir en løsning ekstrahert fra væske fase til fast fase. Det er typisk at den faste fasen er en sorbent med en bundet organisk fase eller et organisk polymer. Det er vanlig å pakke den faste fasen i et rør og la prøven passere igjennom røret (Fritz, 1999).

SPE-kolonnene kan bestå av forskjellig pakkemateriale. Sorbentene kan deles i to grupper, uorganisk- og organiskbasert. Den vanligste uorganiske sorbenten er silika (Camel, 2003). Silika blir fremstilt ved reaksjon av natriumsilikat og en mineralsyre som for eksempel saltsyre (Greibrokk et al., 1984). Silika er mekanisk, termisk og kjemisk stabil under varierende betingelser. Ulempen med silika er at ionebytterkapasiteten er pH-avhengig (Camel, 2003). Silika fungerer best i pH-området 2-7,5. Ved lavere eller høyere pH kan silika bli ødelagt eller endre egenskaper (Sigma-Aldrich Co, 1998). Organisk baserte sorbenter kan videre deles i to grupper, polymere og ikke-polymere. Fordelen med disse er at de kan brukes ved alle pH-verdier. De polymere SPE-kolonnene er altså mer robuste enn silikabaserte SPE-kolonner (Camel, 2003).

Ionebyttersorbenter inneholder vanligvis kation eller anion funksjonelle grupper bundet til fast fase. Sterke og svake kationbyttere inneholder typisk sulfonsyre- og karboksylsyregrupper (Camel, 2003).

SPE-kolonnen Bond Elut Jr fra Varian er pakket med silika. Pakkematerialet oppgis av Varian å ha overflate areal på $90 \text{ m}^2/\text{g}$, gjennomsnittlig partikkelstørrelse på $74 \text{ }\mu\text{m}$ og gjennomsnittlig pore diameter på 56 Å . Bundet funksjonell gruppe hos Bond Elut Jr fra Varian er benzensulfonsyre.



Figur 1 Strukturformel til silika med benzensulfonsyre

Ut i fra Figur 1 kan det sees at materialet er på hydrogenform/protonert, fordi det sitter H^+ på SO_3^- gruppen helt til høyre. Når prøve has igjennom SPE-kolonnen, blir H^+ byttet ut med positivt ladet metall i prøven.

En kationbytter separerer forskjellige ladninger og kan brukes til å fraksjonere metaller i to grupper. Fritt metall i naturlig vann er positivt ladet, mens metaller bundet til humus er negativt ladet. Positivt ladede komplekser blir sittende på SPE-kolonnen, mens nøytrale og negativt ladede komplekser vil passere igjennom kolonnen (Clarke et al., 1996). Ved å bestemme totalkonsentrasjonen av metaller og konsentrasjonen av nøytrale og negativt ladede spesier, kan altså positivt ladede spesier beregnes.

En ionebytter kan bli karakterisert ved dens kapasitet. Kapasitet vil si antall funksjonelle grupper per enhet masse av materialet. Den reelle kapasiteten er vanligvis lavere enn det teoretiske (Camel, 2003).

Ionebytterkapasiteten til SPE-kolonnen er viktig, slik at denne ikke overskrides når prøve settes på kolonnen. Ionebytterkapasiteten til Bond Elut Jr fra Varian oppgis av Varian til å være 0,6-0,9 meq/g eller mmol/g for enverdige ioner. Hver SPE-kolonne inneholder 500 mg adsorbent. Gitt at adsorbentens molekylvekt er 100 g/mol og at et prøvevolum på 20 mL inneholdende 100 $\mu\text{g/L}$ metaller settes på SPE-kolonnen under optimale betingelser, vil denne tåle 15000-22500 injeksjoner. Se utregning i Appendiks C.

Renheten til SPE-kolonnene kan være varierende. Ved analyse av metaller er det viktig at SPE-kolonnene ikke inneholder metaller fra produksjon, fordi det kan føre til kontaminering av prøvene. Inneholder SPE-kolonnene metaller vil det være nødvendig å korrigere for dette med en blindprøve eller rense SPE-kolonnen før bruk. For eksempel ble det funnet at kationbytteren IC-Na fra Alltech var kontaminert med Ag og måtte renses før bruk (Ødegård og Lund, 1997).

Eluering av SPE-kolonnen finner sted når analytt adsorbert til fast fase bringes over i væske fase. Det viktigste ved valg av elueringsmiddel er å velge en løsning som eluerer analytt fullstendig. I tillegg er det viktig å velge en løsning som det går greit å analysere på instrumentet som skal brukes (Fritz, 1999). Det har blitt forsøkt med forskjellige elueringsmidler for å eluere metaller fra SPE-kolonner, blant annet aceton, HNO_3 , HCl , HNO_3 i aceton, HCl i aceton og EDTA (Saracoglu et al., 2002; Ketkanglu et al., 2005).

I noen tilfeller er det nyttig å forbehandle SPE-kolonnen. Dette gjøres for å bedre kontakttiden mellom fast fase og prøve. Hvis fast fase blir tørr, altså at det kommer luft i SPE, kan også dette hindre effektiv kontakt mellom fast fase og prøve (Fritz, 1999).

Gjennomstrømningshastigheten til prøve og eluent er avhengig av kolonnedimensjon og partikkelstørrelse (Fritz, 1999). Fritz (1999) skriver at gjennomstrømningshastigheten bør være konstant, mens Tangen (1999) fant at gjennomstrømningshastigheten ikke hadde betydning for resultatet.

SPE kan brukes til oppkonsentrering ved at prøvevolumet som has igjennom SPE-kolonnen er større enn elueringsvolumet. Oppkonsentrering kan være nyttig ved lave metallkonsentrasjoner i prøve, gitt at store prøvevolumer er tilgjengelig. Mange metoder beskriver oppkonsentrering av metaller på ikke-kommersielle kolonner. En oversikt og sammenlikning over slike metoder og kolonnematerialer har blitt gjort av Camel (2003). Det har blitt brukt både ionebytterkolonner og kolonner med kompleksdannende materialer til oppkonsentrering av metaller. Det blir konkludert med at metodene gir god oppkonsentreringsfaktor og bra recovery (Camel, 2003). Det har ikke blitt funnet liknende arbeid der det har blitt benyttet kommersielle kolonner.

1.2 Spesiering og fraksjonering

Definisjonen på spesiering, spesieringsanalyse og fraksjonering har vært mye diskutert, men følgende definisjon er utarbeidet for IUPAC (Templeton et al., 2000):

1. Kjemisk spesie: Spesifikk form for et grunnstoff definert ut i fra dets molekylære, komplekserte, elektroniske eller kjerne struktur.

2. Spesieringsanalyser: Kvantitativ bestemmelse av en eller flere kjemiske spesier i en prøve.
3. Spesiering av et grunnstoff: Fordelingen av en definert spesie av et grunnstoff i et system.
4. Fraksjonering: Prosess for å klassifisere en analytt eller en gruppe, med hensyn på fysiske eller kjemiske egenskaper.

Spesieringsanalyser er interessant, fordi det gir et bedre helhetsbilde av hva som skjer i prøven (Clarke et al., 1995). Fordelingen av forskjellige spesier er vesentlig for å forstå toksisiteten, biotilgjengeligheten og transport mekanismer for grunnstoff i naturlig miljø (Clarke et al., 1996).

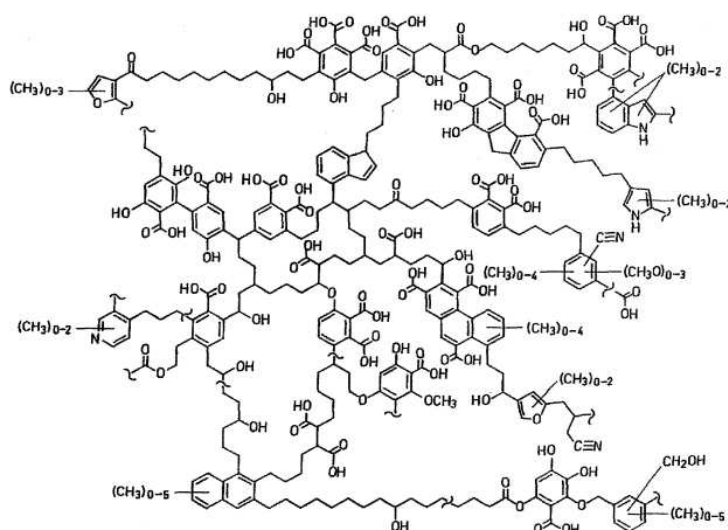
Det er flere problemer ved å bestemme spesier i en naturlig vannprøve. Prøvetaking, lagring og reaksjoner som brukes for å detektere en bestemt spesie, vil kunne forstyrre den naturlige likevekten (Berden et al., 1994). Det er også et problem at totalkonsentrasjonen av metaller i naturlig vann er lav (Clarke et al., 1996). Dermed blir konsentrasjonen av hver enkelt spesie i en prøve enda lavere, og kan være vanskelig å detektere.

pH i prøven er viktig i spesieringsanalyser, fordi pH ofte er avgjørende for hvilket spesie metallene foreligger som. Når prøve has igjennom SPE-kolonnen, kan SPE påvirke pH i prøven. Mest sannsynlig er det motionet til kolonnematerialet som forårsaker dette (Tangen, 1999). At pH endres har blitt vist av Tangen (1999) for flere forskjellige SPE-kolonner. Det er derfor gunstig om pH kan holdes stabil til prøve har vært igjennom SPE-kolonnen. For å få til dette kan SPE-kolonnen forbehandles/kondisjoneres (Tangen, 1999). Det har blitt sett på forbehandling av SCX fra Varian, og ble funnet at forbehandling med vann og forbehandling med vann og acetatbuffer ga signifikant forskjellig svar. Det oppgis at en mulig årsak til dette kan være at kolonnene som er kondisjonert med vann gir en lavere pH i prøven enn de som er kondisjonert med buffer (Tangen, 1999).

Det har blitt utviklet metoder for spesiering av metaller. For eksempel spesiering av Cr^{3+} og Cr^{6+} ved bruk av SPE. Dette er interessant fordi Cr^{3+} er et nødvendig spesie for levende organismer, spesielt for mennesker, mens Cr^{6+} er et toksisk spesie. Relativ feil for metoden ble lavere enn 6 % (Bulut et al., 2006).

1.3 Humus og metall-humus komplekser

Humus eller naturlig organisk materiale (NOM) er store organiske molekyler som består av aromatiske og alifatiske forbindelser, med mange funksjonelle grupper som karboksyl- og fenolgrupper (Rottmann og Heumann, 1994). Strukturen til humus vil alltid variere, men et eksempel på hvordan den kan se ut er gitt i Figur 2.



Figur 2 Eksempel på strukturformel til humus (Schulten og Schnitzer, 1993).

Humus finnes i alle vannkilder og stammer fra rester av døde planter og dyr (Pelekani et al., 1999). Humus har en molekylvekt som ligger mellom noen få hundre DA og 100000 DA (Leenheer og Croué, 2003). Humuskonsentrasjon og sammensetning er i stor grad avhengig av kilden til organisk materiale, temperatur, ionestyrke, pH, sammensetningen av kationer i vannet, sesongvariasjon og aktiviteten til mikrobiologiske nedbrytningsprosesser (Leenheer og Croué, 2003). En av humus sine viktige egenskapene er dens evne til å danne komplekser med metallioner. Dannelsen av og stabiliteten til metall-humuskompleksene øker når pH øker (Boogs et al., 1985).

Enkleste måte å bestemme mengden av humus og karakterisere humus i vann er å måle karboninnholdet. Det totale karboninnholdet (TOC) er summen av løst organisk karbon (DOC) og partikulært organisk karbon (POC). Ved å filtrere vannet igjennom et filter med porestørrelse på 0,45 μm , vil løsningen som passerer filteret gi mengde DOC, hvorav hoveddelen av DOC er humus (Thurman, 1985). POC større enn 0,45 μm utgjør som regel rundt 10 % av TOC (Leenheer og Croué, 2003).

1.3.1 RO-isolater

I dette arbeidet blir det benyttet humus gitt av gruppen for miljøkjemi ved Universitetet i Oslo. Denne humusen blir kalt RO eller RO-isolat, fordi den har gått igjennom en prosess som blant annet består av omvendt osmose (reversed osmosis). Prosessen er beskrevet i Gjessing et al. (1999). Kort fortalt ble dette utført ved at 1500-3000 L vann ble pumpet igjennom et filter og over i et reservoar. Fra reservoaret ble vannet pumpet igjennom en kationbytter, der kationer i prøven ble erstattet med Na^+ . Deretter ble vannet pumpet igjennom en RO membran med en porestørrelse på 150 Å (15 nm). Se Figur 3.



Figur 3 RO enheten (Vogt et al., 2001).

I RO enheten ble vannet separert i to deler. Prøven med humus ble samlet opp i store kanner, tatt med tilbake på laboratoriet og filtrert med et 0,45 µm Nuclepore filter. Videre ble prøven konsentrert i rotavapor og til slutt frysetørket.

1.4 Hensikt

SPE-kolonner skal brukes til spesiering av naturlig vann. Spesieringsanalyser kan gi svært nyttig informasjon, siden forskjellige spesier kan ha veldig forskjellige egenskaper. Det vil bli forsøkt å binde positivt ladede ioner i en prøve til SPE-kolonner og analysere på de negativt ladede og uladede spesiene som kommer ut av SPE-kolonnene. Når totalbestemmelse av metallkonsentrasjoner i prøven også blir gjort, kan mengde positive spesier i prøven beregnes.

SPE skal brukes til å samle totalt metall i en vannprøve på SPE-kolonne, for etterpå å kunne eluere metallene fra SPE-kolonnen. Dette vil være svært nyttig i feltarbeid, siden transport og lagring vil kunne bli mye enklere og sjansen for å forstyrre prøvens likevekt under transport og lagring minimeres.

SPE-kolonner skal brukes til oppkonsentrering. Oppkonsentrering kan også være svært nyttig med tanke på feltarbeid og når det er lave konsentrasjoner i prøven.

I arbeidet vil det bli sett på parametere som hvor godt SPE-kolonnene binder metaller, renheten til SPE-kolonnene, elueringsmiddel, elueringsvolum, gjennomstrømningshastighet for prøve og eluering, forbehandling av SPE-kolonnene, surgjøring av metall-humuskomplekser, effekten av Ca, Mg og Na i prøven, oppkonsentrering og hvordan forskjellig humus oppfører seg og påvirker prøven.

2. EKSPERIMENTELT

2.1 Instrument

ICP-MS: Perkin Elmer Sciex Elan 5000, se Figur 4.

Styringsenhet: IBM PS/2 77 486 datamaskin.

Peristaltisk pumpe: Gilson minipuls 3.



Figur 4 ICP-MS som brukes til analysene.

ICP-AES: Varian. Vista AX. CCD Simultaneous ICP-AES, se Figur 5.



Figur 5 ICP-AES som brukes til analysene.

TOC: Shimadzu TOC-500A.

Auto Sampler til TOC: Shimadzu ASI-5000A.

2.1.1 Instrumentparametere

Instrumentparametere, isotoper og bølgelengder for ICP-MS og ICP-AES vises i Tabell 1, Tabell 2, Tabell 3 og Tabell 4.

Tabell 1 Instrumentparametere for ICP-MS.

Parameter	Verdi
RF-power	1000 W
Plasma flow	11 L/min
Auxiliary flow	8 L/min
Nebulizer flow	0,82-0,97 L/min
Replicate time	750 ms
Dwell time	250 ms
Sweeps per readings	3
Readings per replicate	1
Number of replicates	5
Points per spectral peak	1

Tabell 2 Isotoper brukt i ICP-MS analysene.

Metall	Masse
Aluminium	27
Bly	208
Kadmium	114
Kobber	63
Kobolt	59
Krom	53
Mangan	55
Nikkel	60
Vanadium	51

Tabell 3 Instrumentparametere for ICP-AES.

Parameter	Verdi
Power	1000 W
Plasma flow	15 L/min
Auxiliary flow	1,5 L/min
Nebulizer flow	0,75 L/min
Replicate read time	100 s
Instrument stabilisation delay	1 s
Sample stabilisation delay	15 s
Sample uptake delay	30 s
Pump rate	15 rpm
Rinse time	10 s
Replicates	3
Sample flow	1 mL/min

Tabell 4 Bølgelengder brukt i ICP-AES analysene.

Metall	Bølgelengde (nm)
Aluminium	396,152
Jern	238,204

2.1.2 Daglig test

For å optimalisere ICP-MS ble det ved alle analysedager gjennomført en daglig test av instrumentet. Daglig test løsning ble laget ved å bruke en stamløsning laget av singelelementstandarder. Daglig test stamløsningen inneholdt 5 mg/L Ba, Cd, Ce, Cu, Ge, Mg, Pb, Rh, Sc, Tb og Tl. 2 mL av denne stamløsningen ble pipetert til en 1000 mL målekolbe, tilsatt 1 % HNO₃ (v/v) og fortynnet til merket. Konsentrasjonen av metaller i daglig test løsningen var 10 µg/L.

2.2 Utstyr

SPE-kolonner

SCX, Bond Elut Jr fra Varian med topplokk. Adsorbent: 500 mg silika med benzensulfonsyre. Ionebytterkapasitet: 0,60-0,90 mmol/g. SPE på hydrogenform.

SCX, PL-SO₃H MP fra Polymer Laboratories uten topplokk. Adsorbent: 100 mg polymer med benzensulfonsyre. Ionebytterkapasitet: 3,2 mmol/g. SPE på hydrogenform.

SCX, IC-Na fra Alltech med topplokk. Adsorbent: 0,5 mL polystyrenbasert.

Ionebytterkapasitet: 0,2 meq/SPE-kolonne. SPE på natriumform.

Sprøytefilter

30 mm SYR FILTER Ca 0,45 µm cellulose acetate (Teknolab AS, Kolbotn, Norge).

pH-meter

Thermo Electron Corporation. Orion 420A+.

Vekt

Sartorius AG CP 224 S (Göttingen, Germany).

Pipetter

Finnpipette digital (Labsystems, Helsinki, Finland).

Volum: 100-1000 µL, 1-5 mL og 2-10 mL.

Ultralydbad

Bandelin SONOREX, RK 100H (Bandelin electronic, Berlin, Tyskland).

Tørkeovn

Fermaks TS 8056 (Bergen, Norge).

2.3 Vannkvaliteter

- Type 1 vann, motstand > 18 MΩ cm ved 25 °C. Millipore Elix-5/Milli-Q rensesystem (Millipore, Billerica, MA USA).

- Type 2 vann, motstand $> 1 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ ved 25°C . MilliporeElix-10 (Millipore, Billerica, MA USA).

Hvis ikke annet er oppgitt, er type 1 vann brukt.

2.4 Vask av utstyr

Alt glassutstyr ble vasket i oppvaskmaskin, Miele Mielabor G 7783 Multitronic (Miele, Tyskland) ved 80°C . Vaskemiddelet som ble brukt var Neodisher A8 (Miele, Rud, Norge) sammen med 5 % (v/v) HNO_3 . Til slutt skyller maskinen med type 2 vann. Plastflasker brukt til prøvene, ble vasket manuelt. Alt utstyr ble satt i 5 % (v/v) HNO_3 etter vask, i minst ett døgn, deretter skylt minst 5 ganger i type 1 vann før bruk.

Det ble benyttet platinakoner i analysene. Skånsom vask av konene ble utført, hvis høye blankverdier ble observert. Konene ble lagt i beger med såpevann og satt på ultralydbad i 15 min ved 30°C . Ved behov ble en q-tips dyppet i 1 % (v/v) HNO_3 , brukt til å tørke av konene. Til slutt ble konene skylt i type 1 vann og tørket i tørkeovn på 50°C .

2.5 Kalibrering av pipetter

Automatpipetter ble alltid kalibrert før lagning av stamløsninger, kalibreringsløsninger og spiking av prøvene. For øvrig bruk av pipettene ble volumet kontrollert ved å veie volumet som ble pipettert, og pipettene ble kalibrert ved behov. Kalibrering av pipettene ble utført som beskrevet i instruksjonsmanualen fra produsent.

2.6 Kjemikalier og standarder

Kjemikalier som ble brukt i arbeidet vises i Tabell 5. Singel- og multielementstandardløsningene som ble brukt i arbeidet vises i Tabell 6.

Tabell 5 Kjemikalier.

Kjemikalier	Formel	Kvalitet	Produsent og Leverandør
Argon gass	Ar	99,999 %	AGA, Oslo, Norge
Salpetersyre	HNO ₃	Suprapur 65 %	Merck, Darmstadt, Tyskland
Salpetersyre	HNO ₃	pa 65 %	Merck, Darmstadt, Tyskland
Eddiksyre	CH ₃ COOH	pa	Merck, Darmstadt, Tyskland
EDTA	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ * 2H ₂ O	pa	Fluka, Oslo, Norge
Natrium-hydroksid	NaOH	pa	Merck, Darmstadt, Tyskland
Ammonium-acetat	NH ₄ CH ₃ COO	pa	Merck, Darmstadt, Tyskland
Kalsiumnitrat	Ca(NO ₃) ₂	pa	VWR International, Oslo, Norge
Magnesiumnitrat	Mg(NO ₃) ₂	pa	Merck, Darmstadt, Tyskland
Natriumnitrat	NaNO ₃	Suprapur	Merck, Darmstadt, Tyskland
Natriumkarbonat	Na ₂ CO ₃	Suprapur	Merck, Darmstadt, Tyskland
Humic acid	HA		Aldrich-Chemie, Steinheim, Tyskland

Tabell 6 Standardløsninger.

Produkt nr.	Grunnstoffer	Konsentrasjon	Matriks	Produsent og leverandør
SS-028311	Cd, Cr ³⁺ , Co, Cu, Fe, Pb, Mn, Ni, V og Zn	100 µg/mL	2,5 % HNO ₃	Spectrascan. Teknolab, Kolbotn, Norge
1012	Al	1000 µg/mL	2,5 % HCl	Spectrascan. Teknolab, Kolbotn, Norge
1004	Fe	1000 µg/mL	2,5 % HNO ₃	Spectrascan. Teknolab, Kolbotn, Norge
S-Ca-1250	Ca	1000 µg/mL	2,5 % HNO ₃	Spektrapure. Holger Teknologi, Manglerud, Norge

Redokstrinnet til metallene er ikke spesifisert i analysesertifikatetene som følger flaskene. Fra Spectrascans katalog, som beskriver tillaging av singelelementstandarder, fremgår det at de aller fleste metalløsningene er laget ut fra rent metall, som er løst i HNO₃. Bare Pb og V er laget ut fra salter, henholdsvis Pb(NO₃)₂ og V₂O₅. Basert på dette antas det at metallene foreligger i følgende oksidasjonstrinn: Al³⁺, Ca²⁺, Cd²⁺, Co²⁺, Cr³⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺, Ni²⁺, Pb²⁺ og V⁵⁺.

2.7 Kalibreringsløsninger

Kalibreringsløsningene ble laget av singel- og multielementstandardløsninger.

Kalibreringsløsningene ble laget i 100 mL målekolber i glass. Kalibreringsløsningene ble tilsatt HNO_3 , slik at syrekonsentrasjonen ble 1 % (v/v).

2.8 Prøver

2.8.1 Spiking med metaller

Det ble laget syntetiske vannprøver av multielementstandarden SS-028311, se Tabell 6. Med unntak av innledende forsøk, inneholdt prøvene også Al fra singelelementstandard og under oppkonsentreringsforsøkene ble vannprøvene også tilsatt Fe fra singelelementstandard. I de fleste forsøkene ble det brukt konsentrasjoner på 100 $\mu\text{g/L}$, for hvert av metallene. I disse tilfellene vil konsentrasjonene på stolpediagrammene bli den samme som recovery i %. Hvis andre konsentrasjoner enn 100 $\mu\text{g/L}$ er brukt, er dette spesifisert i teksten.

Noen av vannprøvene tilsettes Ca, Mg og Na i kjent konsentrasjon, i forsøk på å gi prøvene egenskaper som likner mer på en naturlig vannprøve. Disse konsentrasjonene ble valgt, fordi de er representative for hva som finnes i naturlige vannprøver (Sigg et al., 1994). Se Tabell 7. I valideringsprøven tilsettes Ca fra singelelementstandard i en konsentrasjon på 10 mg/L.

Tabell 7 Konsentrasjonene av Ca, Mg og Na som tilsettes til noen prøver.

Metall	Konsentrasjon, M	Konsentrasjon, mg/L
Ca^{2+}	$1,0 \cdot 10^{-3}$	40
Mg^{2+}	$3,0 \cdot 10^{-3}$	73
Na^+	$2,5 \cdot 10^{-4}$	5,7

2.8.2 Prøvevolum og elueringsvolum

Hvis ikke prøvevolum og elueringsvolum er spesifisert i teksten, ble det benyttet et prøvevolum og et elueringsvolum på 20 mL.

2.8.3 Buffer

For at pH i prøven skal ligge i nærheten av det som finnes i naturlige vannprøver, ble prøveløsningene tilsatt acetatbuffer med en konsentrasjon på 0,009 M $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ og 0,001 M CH_3COOH . pH i naturlige vannprøver kan variere mye, men konsentrasjonen av buffer ble valgt ut i fra at pH skulle bli svakt sur. Det ble laget en stamløsning med acetatbuffer som var 100 ganger sterkere, som fortynnes 100 ganger ved tilsetning i prøveløsningen. pH i prøveløsningen måles til $\text{pH}=5,35$ med pH-meter. Der annet ikke er oppgitt, ble alle syntetiske vannprøver tilsatt acetatbuffer, slik at pH blir rundt 5,35.

Det ble gjort forsøk der hydrogenkarbonatbuffer ble tilsatt prøvene, i stedet for acetatbuffer. Det ble laget to hydrogenkarbonatbuffer ved å veie ut Na_2CO_3 og tilsette HNO_3 .

Konsentrasjonene som ble bruk, ble valgt i et forsøk på å oppnå pH-verdier på ca 5,4 og 6,4. Løsningene som ble brukt hadde Na_2CO_3 konsentrasjon på 0,002 M og HNO_3 konsentrasjon på henholdsvis 0,003 M og 0,0038 M. Det ble laget en stamløsning som var 10 ganger sterkere, som fortynnes 10 ganger ved tilsetning i prøvene.

2.8.4 Humus

I siste del av arbeidet tilsettes prøvene humus. Det ble brukt Humic Acid (HA) fra Aldrich, løst i vann. Det ble laget stamløsninger ved å sette humus og vann på magnetrøring, ca 20 timer. Ved laging av prøveløsninger med 10 mg/L humus, var stamløsningen på 100 mg/L humus. Ved laging av prøveløsninger med 20, 50 og 100 mg/L humus var stamløsningen på 1000 mg/L.

2.8.5 Naturlige vannprøver og RO isolater

Det ble brukt en naturlig vannprøve fra Langtjern og omvendt osmose isolater (RO) fra Langtjern og Hellerudmyra, beskrevet i avsnitt 1.3.1. RO ble løst i vann, ved å sette RO og vann på magnetrøring i ca 20 timer. Vannprøvene ble både brukt som de var og spiket i forskjellige konsentrasjoner. Det ble laget en stamløsning med RO materialene på 1000 mg/L, som fortynnes til konsentrasjoner på 20 mg/L eller 100 mg/L ved tilsetning til prøver.

2.8.6 Matriks matching med HNO_3

Prøvene tilsettes HNO_3 etter de har vært igjennom SPE-kolonnene, slik at HNO_3 konsentrasjonen i prøvene blir 1 % (v/v). Dette gjøres for å oppnå mest mulig lik matriks som kalibreringsløsningene. Prøvene som elueres fra SPE inneholder 1 M HNO_3 , og tilsettes ikke syre. 1 % (v/v) HNO_3 tilsvarer 0,14 M HNO_3 , det vil si at prøvene med 1 M HNO_3 allerede inneholder en høyere syrekonsentrasjon enn kalibreringsløsningene. Dermed vil ikke matriks bli mer lik av å tilsette syre.

2.8.7 Blindprøver

Valg av blindprøver ble diskutert med veileder flere ganger underveis i arbeidet. Det ble brukt prøver som hadde gått igjennom forskjellige prosesser og det var derfor nødvendig å bruke forskjellige blindprøver. Ved valg av blindprøve ble det også diskutert om det var riktig å ha blindprøve igjennom SPE-kolonnene eller ikke. Når blindprøve har igjennom en SPE-kolonne, vil metaller i blindprøve bindes til kolonnen. Samtidig er det noen ganger riktig at den passerer SPE-kolonnen, for å kunne korrigere for metaller som sitter i kolonnen. Der prøve ble matriksmatchet med HNO_3 , ble også blindprøve tilsatt HNO_3 , slik at blindprøven oppnår en HNO_3 konsentrasjon på 1 % (v/v).

For syntetiske prøver ble acetatbuffer med samme konsentrasjon som prøven brukt som blindprøve. Dette gjelder prøvene i avsnitt 3.4, 3.5, 3.6, 3.7 og 3.8. Når syntetiske prøver ble eluert fra SPE, ble elueringsmiddelet brukt som blindprøve.

Når humus tilsettes i prøvene, ble det laget en egen prøve med samme type humus i samme konsentrasjon som prøvene. Prøven som ble laget har igjennom en SPE-kolonne, og trekkes fra som blindprøve. Der Ca, Mg og Na ble tilsatt prøven, ble også blindprøven tilsatt Ca, Mg og Na i samme konsentrasjon som prøven. Forskjell på prøve og blindprøve blir dermed spiket konsentrasjon. Dette gjelder prøvene i avsnitt 3.9, 3.9.3, 3.9.4, 3.9.5 og 3.10.

For Langtjern prøve og Langtjern prøve som har vært igjennom en SPE-kolonne i avsnitt 3.10, er blindprøve ikke trukket fra. I avsnitt 3.11 er blindprøve heller ikke trukket fra. Når humus prøvene elueres med 1 M HNO_3 , så brukes 1 M HNO_3 igjennom SPE-kolonnen som blindprøve. Volumet av 1 M HNO_3 er det samme som elueringsvolumet, se avsnitt 3.12.

I valideringen ble en blindprøve inneholdende 20 mg/L RO fra Hellerudmyra som ikke har vært igjennom SPE trukket fra, fordi det var ønskelig å finne recovery verdiene til spikede metaller. Dette var viktig for Al og Fe, men hadde liten betydning for de andre metallene siden disse verdiene er under deteksjonsgrensene. I tillegg ble 1 M HNO₃, som hadde vært igjennom SPE-kolonnen, trukket fra. Dette gjelder avsnitt 3.13 og 3.14.

2.8.8 Surgjøring av prøvene med HNO₃

Når det i teksten blir skrevet at for eksempel 0,1 M HNO₃ tilsettes prøvene, så menes det at det tilsettes HNO₃, slik at HNO₃ konsentrasjonen i prøven blir 0,1 M. Mengden eller konsentrasjonen av HNO₃ som tilsettes avhenger av hva slutt konsentrasjonen skal være.

2.9 Valideringsparametere

2.9.1 Nøyaktighet

Recovery ble brukt som et mål på metodens nøyaktighet. Nøyaktighet ble funnet ved å spike prøvene med kjent mengde singel- og multielementstandarder, og deretter beregne recovery ut i fra formel (1) (Døhl og Tønseth, 1996):

$$\text{Recovery} = \frac{M_{\text{ålt}}}{T_{\text{ilsatt}}} \cdot 100\% \quad (1)$$

Konfidensintervall ble beregnet ut i fra formel (2) (Miller og Miller, 2005):

$$\bar{x} \pm \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}} \quad (2)$$

\bar{x} er gjennomsnittet, t er tabellverdi (2,11 for 17 frihetsgrader og 2,78 for 4 frihetsgrader), s er standardavviket og n er antall analyser.

2.9.2 Presisjon

Presisjon uttrykkes som repeterbarhet og reproduserbarhet. Som et mål på presisjon ble relativt standardavvik fra bestemmelsen av nøyaktighet brukt. For å beregne reproduserbarhet

ble det brukt 6 prøvereplikater analysert 3 forskjellige dager, altså 18 analyser. For å beregne repeterbarhet ble standardavviket til alle prøvereplikater analysert på en dag brukt, altså 6 analyser.

2.9.3 Linearitet

Regresjonskurve, korrelasjonskoeffisient og en grafisk presentasjon av ICP-MS og ICP-AES resultater beskriver lineariteten i dette arbeidet.

2.9.4 Deteksjon- og kvantifiseringsgrenser

Deteksjonsgrense er den laveste mengde eller konsentrasjon av analytt som kan bli detektert med en akseptabel statistisk signifikans. Deteksjonsgrense uttrykkes med formel (3) (Miller og Miller, 2005):

$$LOD = \frac{3 \cdot Sb}{b} \quad (3)$$

Sb er standardavviket til responsen av 10 målereplikater av blindprøve og b er stigningen til kalibreringskurven (regresjonslinjen).

Kvantifiseringsgrense er den laveste mengde eller konsentrasjon av analytt som kan bli kvantifisert med en akseptabel statistisk signifikans. Kvantifiseringsgrense uttrykkes med formel (4) (Døhl og Tønseth, 1996):

$$LOQ = \frac{10 \cdot Sb}{b} \quad (4)$$

Sb er standardavviket til responsen av 10 målereplikater av blindprøve og b er stigningen til kalibreringskurven (regresjonslinjen).

3. RESULTATER OG DISKUSJON

3.1 Kort beskrivelse av metodeutvikling

Metodeutviklingen startet med å bruke syntetiske vannprøver uten tilsatt humus, for å se hvilke egenskaper SPE-kolonnene har. Det ble sett på hvordan SPE-kolonnene binder metaller, hvilket elueringsmiddel som eluerer mest metaller, mengde metaller i SPE-kolonnene, om bindingen av metaller til SPE-kolonnene er avhengig av gjennomstrømningshastighet, og om eluering av SPE-kolonnene er avhengig av gjennomstrømningshastighet eller elueringsvolum. Deretter ble prøvene tilsatt forskjellig type humus. Humusholdige prøver ble brukt til å utvikle en metode for å samle totalt metall og oppkonsentrere en naturlig vannprøve på SPE-kolonner. Når metoden var ferdig ble den validert. Til slutt ble det gjort noen forsøk med en polymerbasert SPE-kolonne.

3.2 Valg av SPE-kolonner

Det var ønskelig å bruke kommersielle engangs SPE-kolonner til å utvikle en metode som kan brukes både på laboratoriet og i feltarbeid. Derfor var det i utgangspunktet interessant å bruke en SPE-kolonne med topplokk, slik at det kunne brukes en plastsprøyte til å få prøve og elueringsmiddel igjennom kolonnen. Både Bond Elut Jr fra Varian og IC-Na fra Alltech har et slikt topplokk, og ble evaluert i arbeidet. Det ble vurdert å bruke Chelex kolonner, men på grunn av tidligere resultater (Tangen, 1999), høyere kostnad og lang bestillingstid, ble det funnet mindre hensiktsmessig. Valget falt til slutt på Bond Elut Jr fra varian. Teori og spesifikasjoner for denne SPE-kolonnen er beskrevet i avsnitt 1.1.

Gaute Tangen viste at Bond Elut Jr fra Varian var best egnet, da han sammenliknet kolonner fra Alltech (Chelex, kompleksdanner), Supelco IST, Waters (anion og kationbytter) og Varian (SCX), når det ble tatt hensyn til faktorer som pris, utforming og hvilken kolonne som ga lavest standardavvik (Tangen, 1999).

Under avslutningen av det eksperimentelle arbeidet ble det også testet en polymerbasert kationbytter fra Polymer Laboratories. Den polymerbaserte SPE-kolonnen var uten topplokk og på hydrogenform. Det ble derfor brukt en peristaltisk pumpe for å suge prøve igjennom kolonnen. Alle SPE-kolonner som ble brukt i arbeidet vises i Figur 6.



Figur 6 Fra venstre: Bond Elut Jr fra Varian, IC-Na fra Alltech og polymerbasert kolonne fra Polymer Laboratories.

3.3 Kvantitativ bestemmelse med ICP-MS og ICP-AES

3.3.1 Valg av isotoper og bølgelengder

ICP-MS

For de fleste grunnstoffene finnes det flere isotoper å velge mellom. Det er tilstrekkelig å velge 1-2 isotoper, hvis disse har få interferenser. I de første analysene ble alle isotopene for aktuelle grunnstoff benyttet. Kalibreringskurvene viste da noen isotoper som ikke var egnet. Videre ble det undersøkt hvilke isotoper som har høyest forekomst, se Tabell 8, og minst interferenser. Det ble hele tiden analysert på to isotoper, for de grunnstoffene som har mer enn en isotop. Slik fås en kontroll med interferenser som kan påvirke resultatene. Kun en isotop blir presentert i resultatene. For hvilke isotoper som ble valgt, se Tabell 2 i avsnitt 2.1.1. Co og V ble ikke analysert i de innledende forsøkene, og blir derfor ikke presentert i de første avsnittene.

Tabell 8 Isotopene som ble brukt til analysene og forekomst. Fet skrifttype viser isotopen med høyest forekomst. (Tan og Horlick, 1986; Thomas, 1994).

Isotop	Forekomst, %
²⁷ Al	100
¹¹¹ Cd	12,8
¹¹⁴ Cd	28,9
⁵⁹ Co	100
⁵² Cr	83,76
⁵³ Cr	9,51
⁶³ Cu	69,1
⁶⁵ Cu	30,9
⁵⁵ Mn	100
⁶⁰ Ni	26,16
⁶² Ni	3,66
²⁰⁶ Pb	23,6
²⁰⁸ Pb	52,4
⁵¹ V	99,76

ICP-AES

Det ble forsøkt med flere bølgelengder på ICP-AES. Instrumentet oppgir relativ feil og korrelasjonskoeffisient for hver bølgelengde. Ut i fra disse opplysningene, ble beste bølgelengder valgt. Det ble analysert på to bølgelengder i alle analysene, men kun en bølgelengde blir presentert i resultatene. For hvilke bølgelengder som ble valgt, se Tabell 4 i avsnitt 2.1.1

Aluminium

I innledende forsøk ble ICP-MS brukt til analyse av Al, men det viste seg at resultatene ble av variabel kvalitet. Det ble derfor bestemt å forsøke å analysere aluminium på ICP-AES. I noen tilfeller var dette vanskelig, fordi noen Al-konsentrasjoner var så lave at de lå nær eller under LOD. Høye Al-konsentrasjoner fungerte godt på ICP-AES. Er Al-konsentrasjoner fra ICP-MS brukt, er det ikke spesifisert i teksten, men er ICP-AES brukt spesifiseres dette. Kun resultater der kalibreringskurven er tilfredsstillende blir presentert. Et mål på tilfredsstillende kalibreringskurve ble satt til at korrelasjonskoeffisienten er minimum 0,985 (Døhl og Tønseth, 1996).

Jern

Det er et kjent problem at det er vanskelig å analysere Fe på ICP-MS, på grunn av interferenser. Det ble likevel forsøkt å analysere Fe på ICP-MS, men resultatene ble ikke tilfredsstillende. Ingen Fe verdier fra ICP-MS analysene blir presentert. For å unngå problemene med interferenser ble Fe i siste del av arbeidet analysert på ICP-AES. Prøvene inneholder høye nok Fe konsentrasjoner til at analyse med ICP-AES fungerte bra.

Sink

Det finnes 5 Zn isotoper, som alle ble forsøkt å bruke til å analysere Zn på ICP-MS. Det viste seg at kalibreringskurvene ble dårlige og resultatene lite tilfredsstillende. På grunn av dette ble det forsøkt å analysere Zn på ICP-AES. Lave konsentrasjoner av Zn i de fleste prøver, medfører stor usikkerhet i resultatene. Det ble derfor bestemt å droppe Zn i arbeidet.

3.3.2 Drift i instrumentene

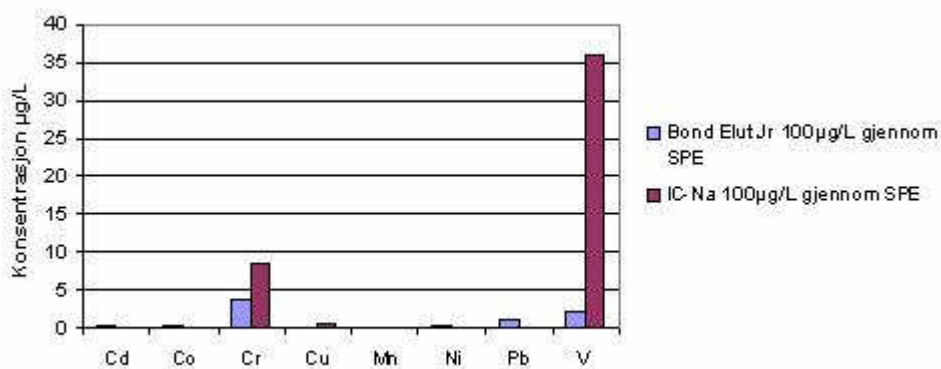
For å kontrollere hvor mye instrumentene driftet ble 100 µg/L kalibreringsløsning analysert som kontrollprøve etter hver 4. prøve. Drift i ICP-AES var ikke et problem, instrumentet var stabilt. Drift i ICP-MS viste seg i innledende forsøk å være et problem. Bortimot 50 % drift ble målt i løpet av 35 min. Siden alle metallene driftet omtrent like mye ble det antatt at prøveinnføringen var årsaken til at ICP-MS ikke var stabilt. Et annet problem var at pumpe slangene ble fort slitt.

Det ble forsøkt å senke hastigheten på peristaltisk pumpe og samtidig løsne på skruen som klemmer på pumpe slangen. Det viste seg at levetiden på pumpe slangene ble omtrent dobbelt så lang, og driften i instrumentet ble redusert til 5-10 %. Prøvene som hadde blitt analysert når instrumentet driftet mye, ble da analysert på nytt.

Mot slutten av arbeidet viste daglig test og kontrollprøvene at drift i instrumentet og dårlig sensitivitet igjen var et problem. Driften og dårlig sensitivitet viste seg å skyldes at andre brukere av ICP-MS analyserte prøver med høyt saltinnhold. For å minimere dette problemet ble instrumentet stabilisert med 10 % HNO₃ (v/v) i 45 minutter før bruk. Dette bedret sensitiviteten, og gjorde instrumentet mer stabilt.

3.4 SPE-kolonnenes evne til å binde metaller

Det var ønskelig at SPE-kolonnene skulle binde alt fritt metall som har igjennom kolonnene. 20 mL av en 100 µg/L metalløsning har igjennom både Bond Elut Jr fra Varian og IC-Na fra Alltech. For å justere pH ble løsningen tilsatt acetatbuffer, som beskrevet i avsnitt 2.8.3. Grunnen til at akkurat denne bufferen ble valgt, er at den har blitt benyttet i liknende arbeider tidligere (Tangen, 1999). Resultatene vises i Figur 7.



Figur 7 Viser mengde metaller som ikke bindes til SPE-kolonnene når 20 mL med 100 µg/L metaller har vært igjennom. Konsentrasjoner i µg/L.

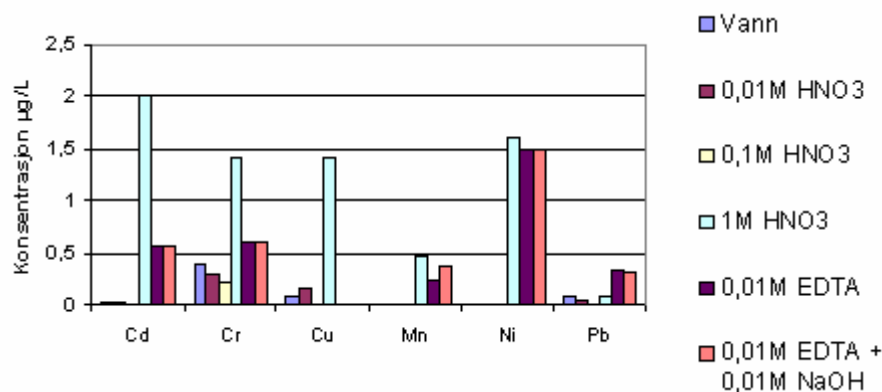
Resultatene viser at ca 8 % Cr og ca 36 % V ikke ble bundet, ved bruk av IC-Na. Bond Elut Jr kolonnen binder metaller veldig godt, maks 4 % blir ikke bundet.

3.5 Bond Elut Jr fra Varian

3.5.1 Mengde metaller i Bond Elut Jr fra Varian

Det ble undersøkt om det satt metaller på Bond Elut Jr kolonnene fra produksjon. Det var viktig å undersøke dette, fordi prøvene kan bli kontaminert hvis det sitter metaller på kolonnene.

Mengde metaller som ble eluert fra SPE-kolonnene når 20 mL av vann, 0,01 M HNO₃, 0,1 M HNO₃, 1 M HNO₃, 0,01 M EDTA (pH målt til 4,52) og 0,01 M EDTA+0,01 M NaOH (pH målt til 7,83) var igjennom SPE-kolonnene ble analysert. Resultatene vises i Figur 8.



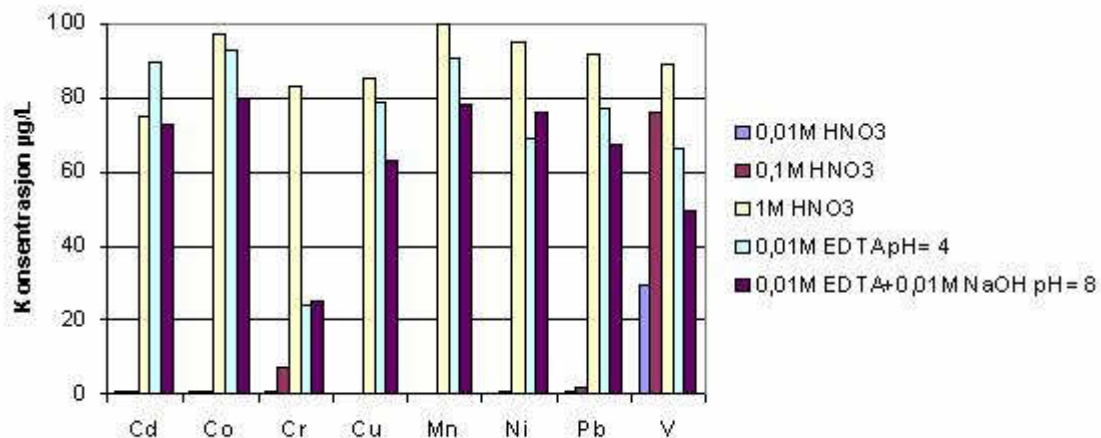
Figur 8 Mengde metaller som ble eluert fra SPE-kolonnen med 20 mL av vann, 0,01 M HNO₃, 0,1 M HNO₃, 1 M HNO₃, 0,01 M EDTA og 0,01 M EDTA+0,01 M NaOH. Konsentrasjoner i µg/L.

Resultatene viser at vann, 0,01 M HNO₃ og 0,1 M HNO₃ eluerer svært lite metall fra SPE-kolonnen, siden konsentrasjonene er lave. For flere av metallene er konsentrasjonene som elueres i nærheten av deteksjonsgrensene, se avsnitt 3.13.5. 1 M HNO₃, 0,01 M EDTA og 0,01 M EDTA+0,01 M NaOH eluerer under 2 µg/L metaller. Betydningen av 2 µg/L metaller avhenger av konsentrasjonene som finnes i prøven, men en blindprøve kan brukes for å korrigere for metaller i SPE-kolonnene.

Al er ikke tatt med i Figur 8, på grunn av dårlig kalibreringskurve, se avsnitt 3.3.1. Senere i arbeidet ble ICP-AES brukt til å bestemme konsentrasjonen av Al og Fe, som ble eluert fra Bond Elut Jr, når 20 mL 1 M HNO₃ has igjennom SPE-kolonnen. Resultatene viste at det er mye Al og Fe som sitter på SPE-kolonnen, 235 µg/L Al og 41 µg/L Fe.

3.5.2 Eluering av Bond Elut Jr fra Varian

20 mL av en løsning med 100 µg/L metaller has igjennom SPE-kolonnene, slik at metallene ble bundet til kolonnene. Det var ønskelig å finne et best mulig elueringsmiddel for å eluere metallene i prøveløsningen. Det ble forsøkt å eluere med 20 mL av 0,01 M HNO₃, 0,1 M HNO₃, 1 M HNO₃, 0,01 M EDTA og 0,01 M EDTA+0,01 M NaOH. Resultatene vises i Figur 9. 0,1 M EDTA ble også forsøkt som elueringsmiddel. Det viste seg at 0,1 M EDTA-løsning tetter slangene som fører løsningen inn til forstøver i ICP-MS og derfor ble dette forsøket droppet.



Figur 9 Mengde metaller som ble eluert ut av SPE-kolonnene når 20 mL med 100 µg/L metaller elueres med 20 mL av de forskjellige elueringsmidler. Konsentrasjoner i µg/L.

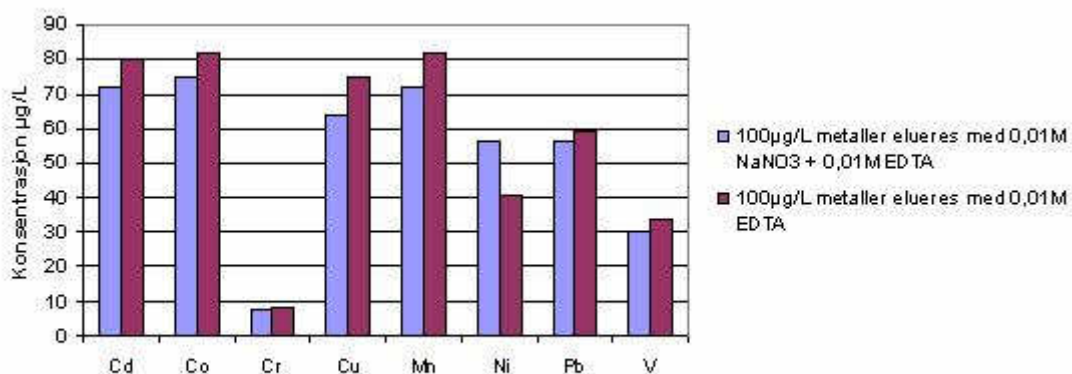
Ideelt sett skulle disse resultatene vært 100 µg/L, fordi alt metall da ville vært både bundet og eluert ut av kolonnene. For alle metaller med unntak av V, så eluerer 0,01 M HNO₃ og 0,1 M HNO₃ svært lite metaller, siden resultatene ligger nær deteksjonsgrensene. Disse elueringsmidlene er altså for svake til å eluere metallene.

1 M HNO₃, 0,01 M EDTA og 0,01 M EDTA+0,01 M NaOH gir alle resultater mellom 60 µg/L og 100 µg/L, med unntak av Cr for 0,01 M EDTA og Cr og V for 0,01 M EDTA+0,01 M NaOH. Det ble sett videre på alle disse tre elueringsmidlene, 1 M HNO₃, 0,01 M EDTA og 0,01 M EDTA+0,01 M NaOH.

Na i EDTA-løsning

I avsnitt 3.5.2 viste resultatene at 0,01 M EDTA+0,01 M NaOH (pH målt til 7,83) eluerte mindre metaller enn 0,01 M EDTA (pH målt til 4,52), med unntak av Ni. Normalt skulle høy pH ha eluert like mye eller mer metaller enn lav pH, fordi de effektive dannelseskonstantene for metall-EDTA kompleksene øker med økende pH (Harris, 2003). Det ble undersøkt om Na i EDTA-løsningen med høy pH var årsaken til at løsningen eluerte mindre enn EDTA med lav pH. Det ble gjort forsøk både med 0,01 M EDTA og 0,01 M NaNO₃+0,01 M EDTA.

Resultatene vises i Figur 10.



Figur 10 Viser hvordan Na i elueringsløsningen påvirker resultatene. 20 mL med 100 µg/L prøveløsning ble eluert med 20 mL av 0,01 M NaNO₃+0,01 M EDTA og 0,01 M EDTA. Konsentrasjoner i µg/L.

Figur 10 viser at det, med unntak av Ni, blir eluert mindre metaller når det brukes 0,01 M NaNO₃+0,01 M EDTA enn når det brukes 0,01 M EDTA. Forsøket bekrefter at Na i elueringsmiddelet medførte at mindre metaller ble eluert.

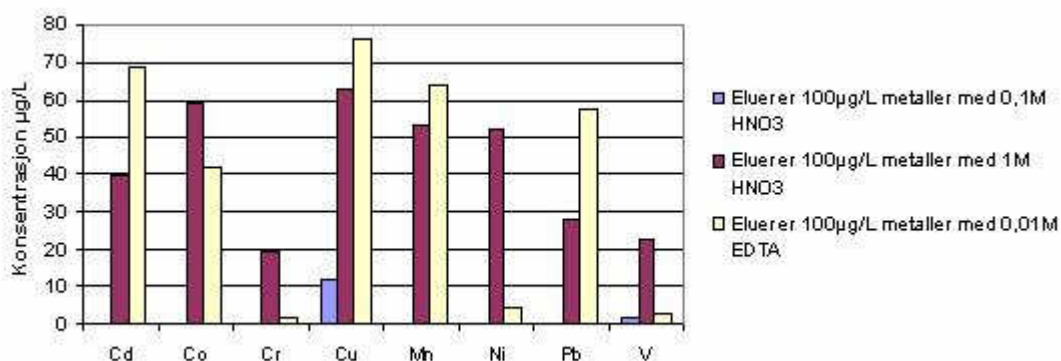
3.6 IC-Na fra Alltech

3.6.1 Mengde metaller i IC-Na fra Alltech

Det ble undersøkt om IC-Na kolonnene fra Alltech inneholdt metaller. Det ble forsøkt å eluere IC-Na med 0,1 M HNO₃, 1 M HNO₃ og 0,01 M EDTA. Resultatene viste at IC-Na inneholdt svært lite metaller. Kun 3 µg/L Cu ble eluert fra kolonnen med 0,01 M EDTA. For de andre metallene og elueringsmidlene ble resultatene under LOD.

3.6.2 Eluering av IC-Na fra Alltech

Siden det ble vist i avsnitt 3.6.1 at mengde metaller i IC-Na er lavt, var det derfor interessant å se videre på disse SPE-kolonnene. 20 mL prøveløsning med 100 µg/L metaller, ble forsøkt eluert med 20 mL 0,1 M HNO₃, 1 M HNO₃ og 0,01 M EDTA. Resultatene vises i Figur 11.



Figur 11 20 mL 0,1 M HNO₃, 1 M HNO₃ og 0,01 M EDTA eluerer 20 mL 100 µg/L metaller fra IC-Na SPE-kolonnene fra Alltech. Konsentrasjoner i µg/L.

Figuren viser at 0,1 M HNO₃ er for svakt til å eluere metallene fra denne SPE-kolonnen. 1 M HNO₃ gir de høyeste konsentrasjonene for Co, Cr, Ni og V. For Cd, Cu, Mn og Pb er 0,01 M EDTA best egnet. Resultater for Al er ikke presentert her, fordi kalibreringskurven ikke var tilfredsstillende. Likevel gir resultatene fra disse Al-analysene en indikasjon på at det ville blitt problemer med å bruke disse SPE-kolonnene til analyse av Al. SPE-kolonnen inneholdt mye Al og det var vanskelig å eluere Al fra disse kolonnene. For de andre metallene ble det også eluert lavere verdier med IC-Na fra Alltech enn når Bond Elut Jr fra Varian ble brukt. Derfor fortsetter arbeidet med Bond Elut Jr fra Varian.

3.7 Gjennomstrømningshastighet

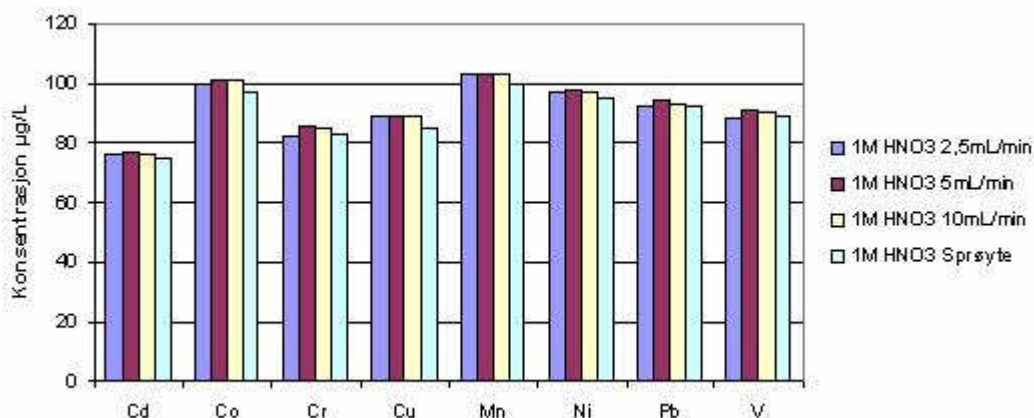
En 20 mL plastsprøyte ble brukt for å få prøve og elueringsmiddel igjennom SPE-kolonnene. Bruk av plastsprøyte vil medføre at gjennomstrømningshastigheten til prøve og elueringsmiddel vil variere. Det var ønskelig å se om gjennomstrømningshastigheten igjennom SPE-kolonnene hadde betydning for resultatene.

3.7.1 Gjennomstrømningshastighet – effekt ved eluering

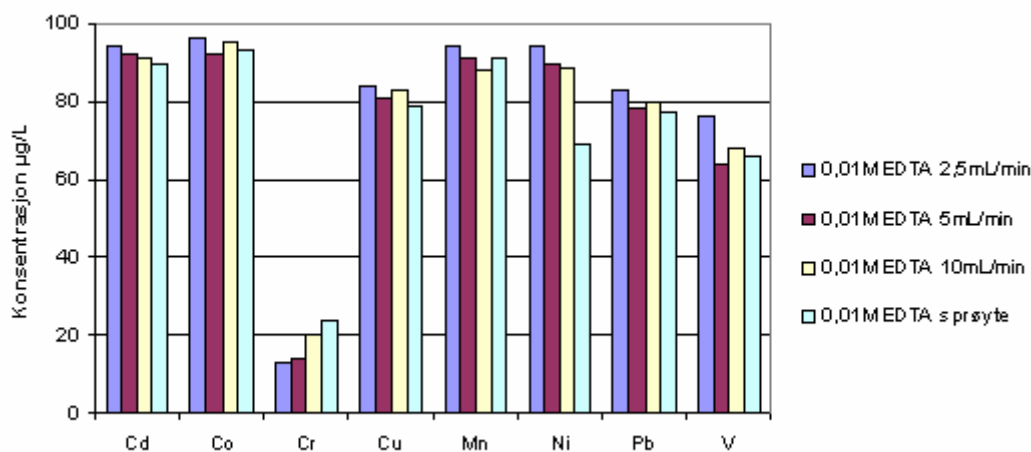
20 mL 100 µg/L metaller has igjennom SPE-kolonnene ved å bruke en plastsprøyte, slik at metallene ble bundet til kolonnen. Deretter ble det brukt en peristaltisk pumpe til å pumpe 20 mL elueringsmiddel igjennom kolonnen med hastigheter på 2,5, 5 og 10 mL/min. Det ble også brukt sprøyte til å eluere 20 mL igjennom SPE-kolonnen.

Det ble forsøkt å gjøre et estimat på gjennomstrømningshastigheten ved bruk av sprøyte. Gjennomsnittet av 30 målinger viste at gjennomstrømningshastigheten for sprøyte var 34,7 sekunder for 20 mL, med standardavvik på 5,5 sekunder. Dette tilsvarer en gjennomstrømningshastighet på 34,6 mL/min ved eluering. Målte verdier vises i Appendiks D.

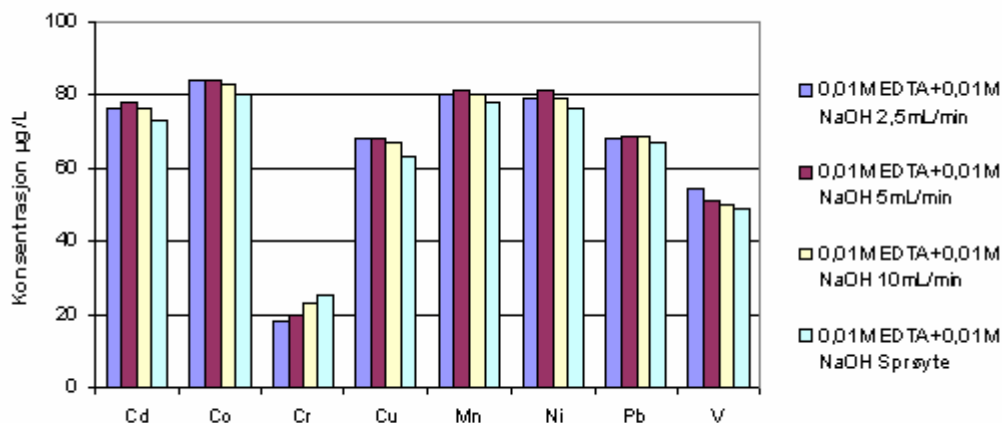
Det ble forsøkt med elueringsmidlene 1 M HNO₃, 0,01 M EDTA og 0,01 M EDTA+0,01 M NaOH. Resultatene vises i Figur 12, Figur 13 og Figur 14.



Figur 12 20 mL 100 µg/L metaller ble eluert med 20 mL 1 M HNO₃ ved forskjellige hastigheter. Konsentrasjoner i µg/L.



Figur 13 20 mL 100 µg/L metaller ble eluert med 20 mL 0,01 M EDTA ved forskjellige hastigheter. Konsentrasjoner i µg/L.



Figur 14 20 mL 100 µg/L metaller ble eluert med 20 mL 0,01 M EDTA+0,01 M NaOH ved forskjellige hastigheter. Konsentrasjoner i µg/L.

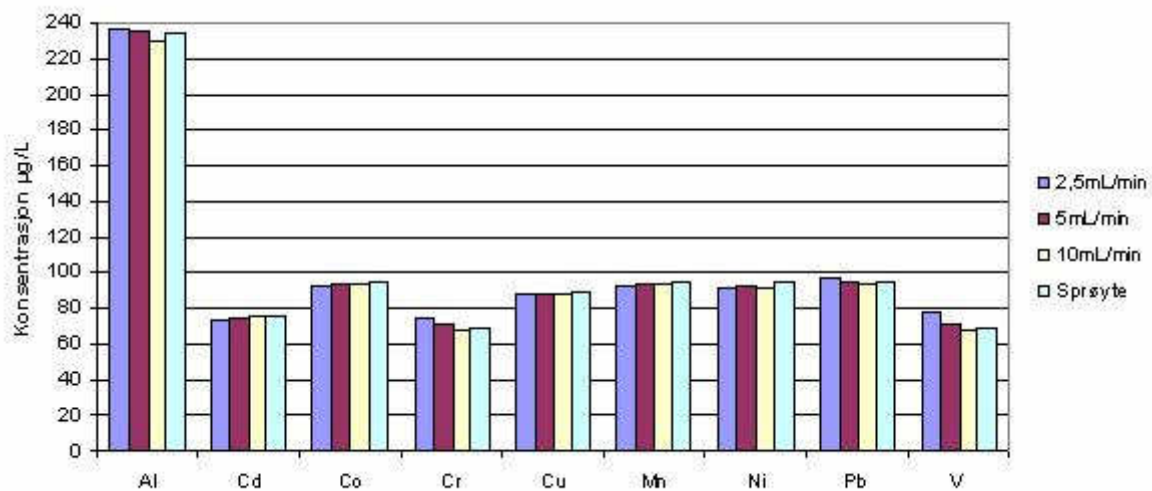
Generelt for alle tre elueringsmidlene ble det liten forskjell i resultatene mellom forskjellige hastigheter, men eluering med 0,01 M EDTA ga dårligere svar for Ni ved bruk av sprøyte.

For 1 M HNO₃ hadde gjennomstrømningshastigheten liten betydning og recovery lå fra nesten 80 % til rundt 100 %. Recovery er høyest ved bruk av 1 M HNO₃. 0,01 M EDTA ga også høye recovery verdier, med unntak av at recovery for Cr ble ca 12-22 %. 0,01 M EDTA+0,01 M NaOH ga generelt de laveste recovery verdiene og recovery verdier for Cr var bare rundt 20 %. For 0,01 M EDTA og 0,01 M EDTA+0,01 M NaOH ga endret gjennomstrømningshastigheten en endring i recovery på rundt 5 %.

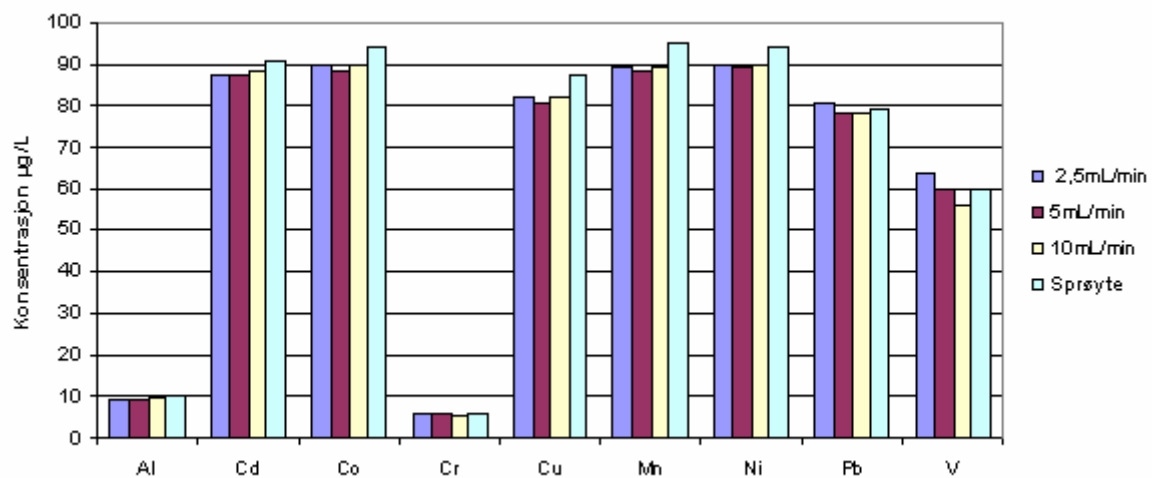
3.7.2 Gjennomstrømningshastighet – effekt ved binding til SPE-kolonnene

20 mL 100 µg/L metaller has igjennom SPE-kolonnene med varierende gjennomstrømningshastighet. Peristaltisk pumpe ble brukt for å pumpe prøveløsning igjennom SPE-kolonnene med hastigheter på 2,5, 5 og 10 mL/min. I tillegg ble sprøyte brukt. Det ble forsøkt å lage et estimat for gjennomstrømningshastighet ved bruk av sprøyte, ved å foreta 30 målinger. Gjennomsnittet viser at gjennomstrømningshastighet for sprøyte var 50,5 sekunder for 20 mL, med standardavvik på 13,8 sekunder. Dette tilsvarer en gjennomstrømningshastighet på 23,8 mL/min ved binding til SPE-kolonnen. Målte verdier vises i Appendiks D.

Metallene ble eluert med 0,01 M EDTA og 1 M HNO₃ ved 5 mL/min. Resultatene vises i Figur 15 og Figur 16.



Figur 15 Effekten av å endre gjennomstrømningshastigheten til prøve. 20 mL 100 µg/L metaller ble eluert med 20 mL 1 M HNO₃, ved en hastighet på 5 mL/min. Konsentrasjoner i µg/L.



Figur 16 Ser på effekten av å endre gjennomstrømningshastigheten til prøve. 100 µg/L metaller ble eluert med 20 mL 0,01 M EDTA, ved en hastighet på 5 mL/min. Konsentrasjoner i µg/L.

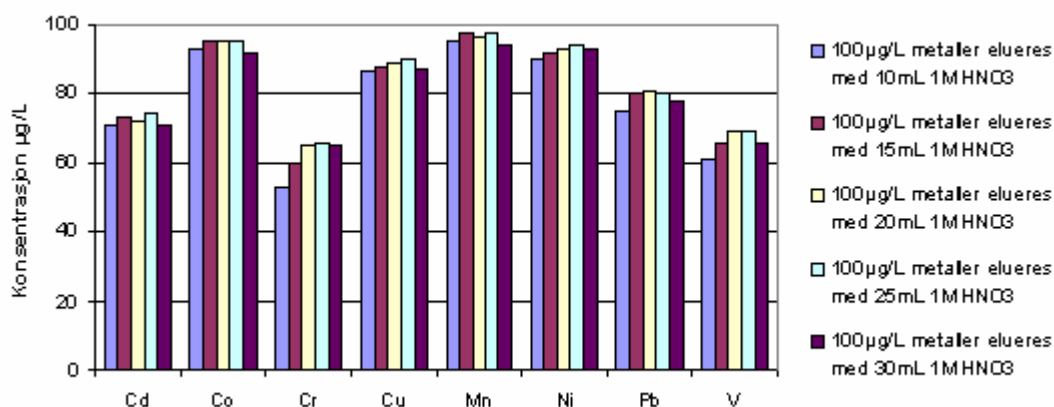
Figur 15 og Figur 16 viser at gjennomstrømningshastigheten til prøve gjennom SPE-kolonnen ikke påvirker resultatet, fordi alle verdiene for samme metall i stolpediagrammet er så godt som like. Avviket som sees, er mindre enn driften i instrumentet. Det er derfor ikke

grunnlag for å si at tallene er forskjellige. Dette er i samsvar med resultatene til Haraldsson et al. (1993) og Tangen (1999).

Al ble ikke analysert når det ble sett på gjennomstrømningshastighet – effekt ved eluering. På Figur 16 sees det at 0,01 M EDTA ikke eluerer Al. 0,01 M EDTA er derfor ikke et egnet elueringsmiddel for Al. 1 M HNO₃ eluerer Al fra SPE-kolonnen og Al i prøve bundet til SPE-kolonnen, og verdiene ble derfor for høye. Hvis 1 M HNO₃ skal brukes til å eluere Al, må det korrigeres for Al i kolonnene, ved å trekke fra blindprøve. Blindprøve må da være 1 M HNO₃ som har vært igjennom en SPE-kolonne. Blindprøven som ble trukket fra på resultatene i Figur 15 var 1 M HNO₃ som ikke har vært igjennom SPE og derfor ble Al verdiene høye. Kort oppsummert tyder resultatene på at gjennomstrømningshastigheten til prøve har liten betydning for resultatet. 1 M HNO₃ ble brukt som elueringsmiddel i videre arbeid.

3.8 Endring av elueringsvolum

Formålet med dette forsøket var å undersøke om endring av elueringsvolum kan påvirke resultatet. 20 mL 100 µg/L metaller ble eluert med 1 M HNO₃, med volum på 10, 15, 20, 25 og 30 mL. Etter analyse ble konsentrasjonene regnet tilbake til opprinnelig prøvevolum. Plastsprøyte ble brukt for å ha prøve og elueringsmiddel igjennom SPE-kolonnen. Prøvevolumet var 20 mL. Resultatene vises i Figur 17.



Figur 17 Betydningen av å endre elueringsvolum. 20 mL 100 µg/L metaller ble eluert med varierende volum av 1 M HNO₃. Konsentrasjoner i µg/L.

Resultatene viser at elueringsvolumet hadde liten betydning. 10 mL elueringsvolum eluerer litt lavere verdier enn elueringsvolum 15-30 mL. Resultatene for elueringsvolum 15-30 mL var relativt like for alle volumer, og på bakgrunn av dette ble det i videre arbeid fortsatt brukt 20 mL som elueringsvolum.

3.9 Tilsetting av humus i prøvene

Humus tilsatt i de syntetiske prøveløsningene med metaller vil danne metall-humuskomplekser, se avsnitt 1.3. Det ble sett på i hvor stor grad denne kompleksbindingen skjer, i hvilken grad mengde humus påvirker kompleksbindingen og om denne prosessen trenger tid. Metaller som blir kompleksbundet til humus blir negativt ladet og vil passere igjennom SPE-kolonnen, mens metaller som ikke bindes til humus er positivt ladet og vil bindes til SPE-kolonnene, se avsnitt 1.1.

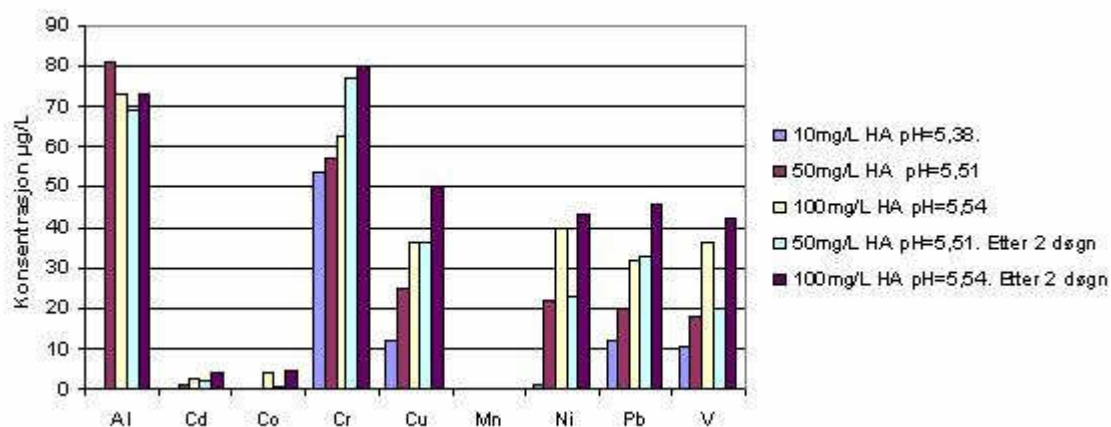
3.9.1 Kompleksdannelse - effekten av tid og effekten av å endre humus konsentrasjon

For å se om mer metall kompleksbindes når konsentrasjonene av humus økes, ble prøveløsninger med 100 µg/L metaller tilsatt henholdsvis 10, 50 og 100 mg/L humus. Disse løsningene has igjennom SPE-kolonner umiddelbart og etter to dagers henstand, for å se om kompleksbinding er en prosess som trenger tid. For prøven med 10 mg/L humus ble det ikke foretatt analyser etter to dagers henstand.

Prøveløsningene ble filtrert igjennom et sprøytefilter med porestørrelse 0,45 µm i forkant av SPE, se Figur 18. Partikler mindre enn dette regnes som løst, se avsnitt 1.3. Resultatene vises i Figur 19.



Figur 18 Bond Elut Jr med sprøytefilter og 20 mL plastsprøyte.



Figur 19 Mengde metaller i en løsning med 100 µg/L metaller og humus som har igjennom SPE-kolonnene. Stolpediagrammet viser mengde metall som har blitt kompleksbundet til humus. Konsentrasjoner i µg/L.

Resultatene viser at når mengde humus øker, så øker også mengde kompleksdannelse mellom metall og humus. For Cd, Co og Mn blir lite metall kompleksbundet til humus, nesten uavhengig av mengde humus tilsatt prøven. Når metalløsningene ble stående i to dager, før de har igjennom SPE-kolonnene, økte kompleksdannelsen for Cr, Cu og Pb med rundt 25 %, det vil si at mesteparten av kompleksdannelsen skjer raskt. For Al, Cd, Co, Mn, Ni og V har tid liten betydning for kompleksdannelsen.

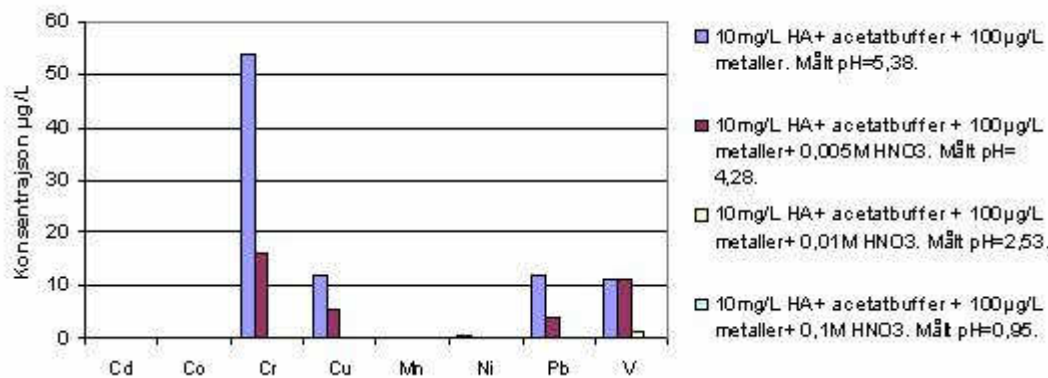
3.9.2 Mengde karbon i HA-stamløsning

Det ble undersøkt mengde karbon i HA-stamløsning, samt holdbarheten. Karboninnholdet måles for å kunne ha mulighet til å sammenlikne karboninnholdet i prøven tilsatt HA med karboninnhold i en naturlig vannprøve. For å bestemme karboninnholdet, ble det laget to stamløsninger med 1000 mg/L HA. Den ene ble stående ni dager i kjøleskap, mens den andre ble laget på analysedagen. Begge løsninger ble filtrert igjennom 0,45 µm sprøytefilter og det ble analysert på organisk karbon i løsningen. DOC verdien vil være lavere enn verdien for TOC, fordi karbon i partikler større enn 0,45 µm blir sittende igjen på filteret. Det ble foretatt en t-test, som viser at det ikke var signifikant forskjell mellom resultatet på de to prøvene, se Appendiks E. Det vil si at stamløsningen holder seg minimum ni dager i kjøleskap. Verdiene lå rundt 335 mg/L.

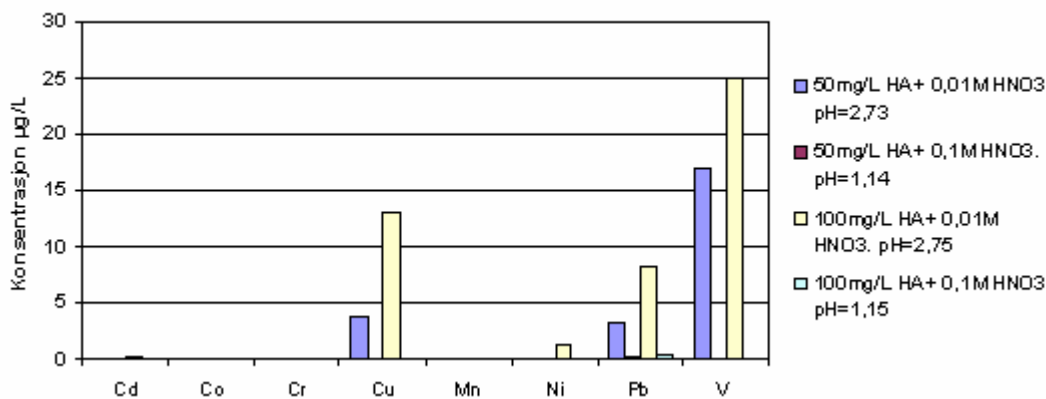
3.9.3 Binding av totalt metall til SPE-kolonnene

Formålet med forsøket var å binde totalt metall til en SPE-kolonne når det tilsettes humus til prøvene. Metall-humuskomplekser vil ikke bindes til SPE-kolonnene, fordi de er negativt ladet, se avsnitt 1.1. For å samle totalt metall i kolonnen, må derfor bindingene spaltes. I forsøk på å spalte bindingene surgjøres prøvene, ved å tilsette HNO_3 til prøven i forskjellige konsentrasjoner.

Det ble forsøkt med forskjellige mengder humus i prøven, 10, 50 og 100 mg/L. Tidligere i arbeidet ble det vist at 0,1 M HNO_3 eluerer svært lite metaller fra SPE-kolonnen, se avsnitt 3.5.2. Det burde derfor være greit å tilsette 0,1 M HNO_3 til prøven, uten at metaller som sitter på SPE-kolonnen fra produksjon elueres. Det blir også forsøkt å tilsette 0,005 M HNO_3 og 0,01 M HNO_3 til prøvene. Resultatene vises i Figur 20 og Figur 21.



Figur 20 Mengde metaller som ikke bindes til SPE-kolonnen når 10 mg/L HA og 100 µg/L metaller er tilsatt prøve. Prøveløsningene var tilsatt HNO_3 i forskjellige konsentrasjoner, slik at forskjellig pH oppnås. Konsentrasjoner i µg/L.



Figur 21 Mengde metaller som ikke bindes til SPE-kolonnen når 50 og 100 mg/L HA og 100 µg/L metaller er tilsatt prøve. Prøveløsningene var tilsatt HNO_3 , slik at forskjellig pH oppnås. Konsentrasjoner i µg/L.

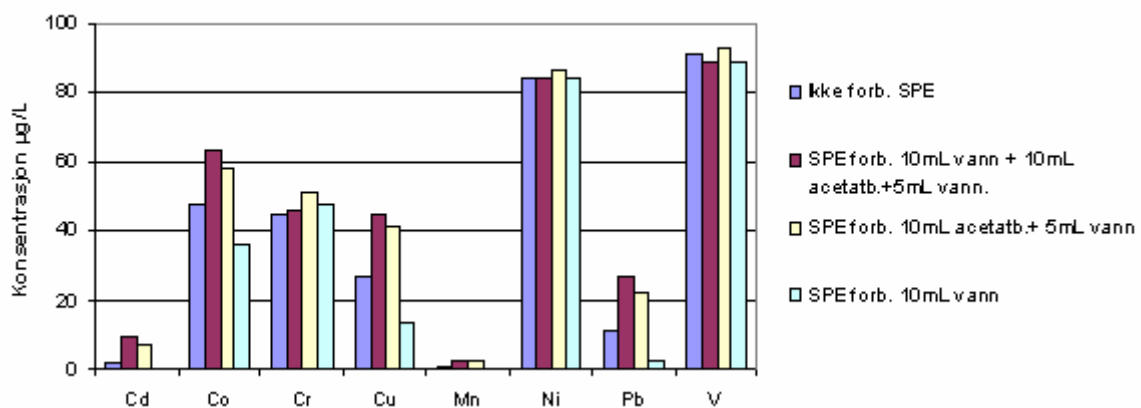
Resultatene viser at totalt metall i prøven bindes til SPE-kolonnen, om løsningen har en HNO_3 konsentrasjon på 0,1 M, det vil si en pH på ca 1. Hvis HNO_3 konsentrasjonen er 0,01 M bindes totalt metall, hvis 10 mg/L HA er tilsatt. I løsningene som har høyere pH enn ca 2,7, vil noe av metallene fortsatt være kompleksbundet til humus (uavhengig av humus konsentrasjon), og disse kompleksene passerer igjennom SPE-kolonnen.

3.9.4 Forbehandling av SPE-kolonnene

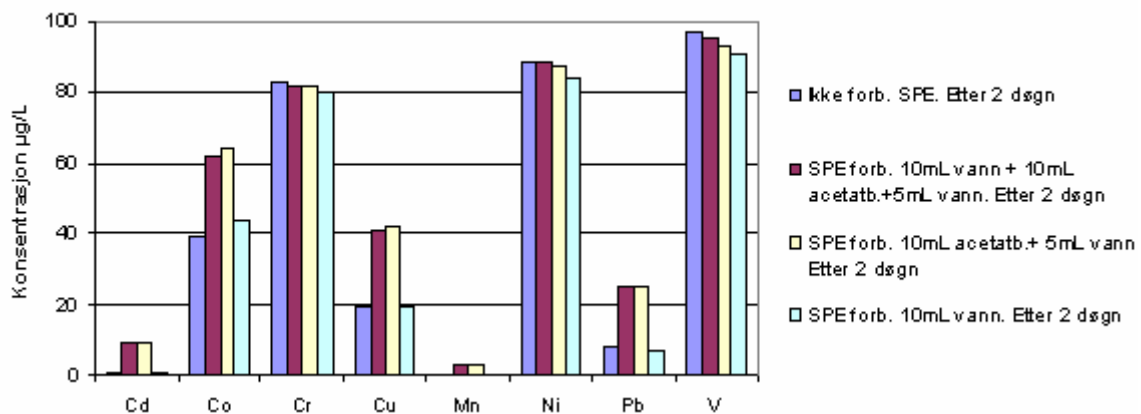
Det ble sett på om forbehandling eller kondisjonering av SPE-kolonnene har betydning for resultatene når det benyttes humusholdige prøver. Med forbehandling menes å ha en eller flere løsninger igjennom SPE-kolonnen før prøven. Følgende forbehandling ble forsøkt:

1. Ikke forbehandle
2. Først 10 mL vann, deretter 10 mL acetatbuffer og til slutt 5 mL vann
3. Først 10 mL acetatbuffer og deretter 10 mL vann
4. 10 mL vann

Prøvene har igjennom SPE-kolonnene umiddelbart etter tillaging og etter to dagers henstand, for å se på tidseffekten. Resultatene vises i Figur 22 og Figur 23.



Figur 22 Prøveløsning med 100 µg/L metaller og 100 mg/L humus har igjennom SPE-kolonnene etter at kolonnene var forbehandlet på forskjellige måter. Konsentrasjoner i µg/L.



Figur 23 Prøveløsning med 100 µg/L metaller og 100 mg/L humus har igjennom SPE-kolonnene etter at kolonnene var forbehandlet på forskjellige måter. Prøvene sto i to døgn før de har igjennom SPE-kolonnene, for å se om dette endrer mengde kompleksdannelse. Konsentrasjoner i µg/L.

Sammenlikning av Figur 22 og Figur 23 viser at med unntak av Cr, så har tid liten betydning for hvordan metallene bindes. For Cr sees det at mer metaller blir kompleksbundet til humus når løsningen står i to døgn. For Cd, Co, Cu, Mn og Pb viser stolpediagrammene at verdiene ble ca 5-20 % høyere når SPE-kolonnene var forbehandlet med acetatbuffer, enn hvis kolonnene bare var forbehandlet med vann eller uten forbehandling.

3.9.5 Hydrogenkarbonatbuffer og Ca, Mg og Na i prøvene

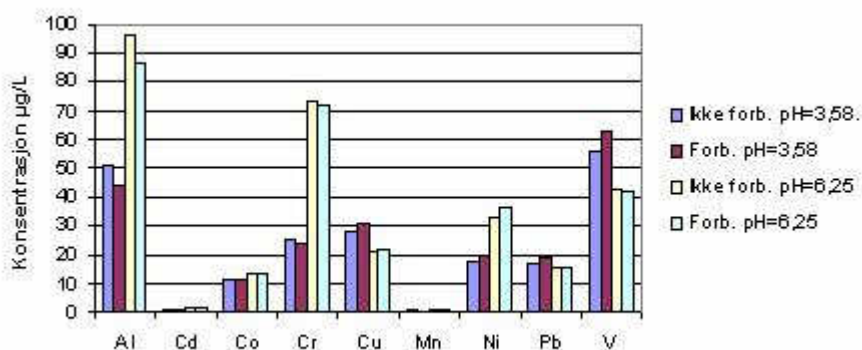
Det ble forsøkt å forbehandle SPE-kolonnene med hydrogenkarbonatbuffer og å tilsette hydrogenkarbonatbuffer til prøvene, i stedet for acetatbuffer. Det vil gjøre at prøvene likner mer på en naturlig vannprøve, siden det finnes HCO_3^- og CO_3^{2-} i naturlig vann (Stumm et al., 1995), mens acetationenet, CH_3COO^- vanligvis ikke finnes naturlig i vann.

I forsøk på å oppnå pH på 5,4 og 6,4, ble det tilsatt 0,02 M Na_2CO_3 og henholdsvis 0,030 M eller 0,038 M HNO_3 . Tilsetting av bufferen ga store problemer med dannelse av mye kullsyre, og det ble derfor forsøkt med konsentrasjoner som var 10 ganger svakere. Problemet med mye kullsyre forsvant ikke, men det ble dannet mindre.

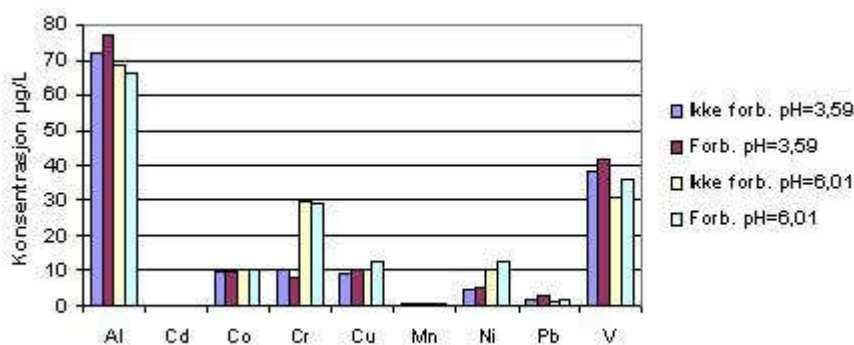
Dannelsen av kullsyre medførte at pH endret seg svært raskt. pH ble målt med pH-meter umiddelbart etter at løsningene var laget, rett etter prøvene hadde passert SPE-kolonnene og rett etter analyse. Disse målingene viste at pH ikke var stabil under forsøkene og at løsningene ikke hadde bufferegenskapene som var ønsket. pH rett etter at prøvene har passert SPE-kolonnene var 3,29 og 5,24. Prøvene blir tilsatt Na_2CO_3 og HNO_3 i konsentrasjoner oppgitt i avsnitt 2.8.3.

Forbehandlingen som ble gjort på noen av SPE-kolonnene, var 10 mL hydrogenkarbonatløsning med 0,002 M Na_2CO_3 og henholdsvis 0,0030 M eller 0,0038 M HNO_3 . SPE-kolonnene ble deretter rensset med 5 mL vann. Resultatene vises i Figur 24, Figur 25, Figur 26, Figur 27 og Figur 28.

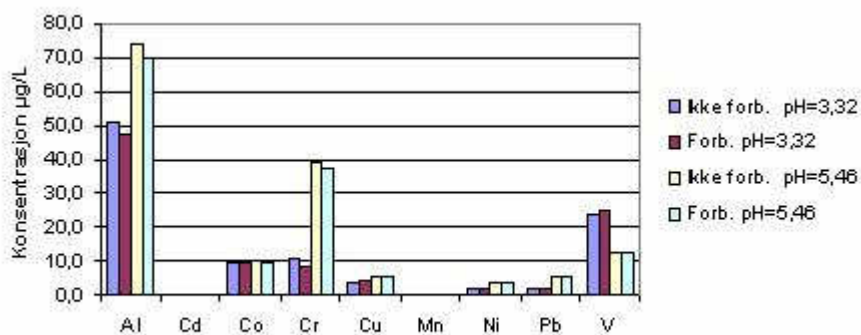
Det ble også forsøkt å tilsette 40 mg/L Ca, 73 mg/L Mg og 5,7 mg/L Na (avsnitt 2.8.1) i prøvene, for å se om dette påvirker hvordan metallene bindes til SPE-kolonnene. 20 mL prøve ble brukt, og resultatene vises i Figur 25, Figur 27 og Figur 28.



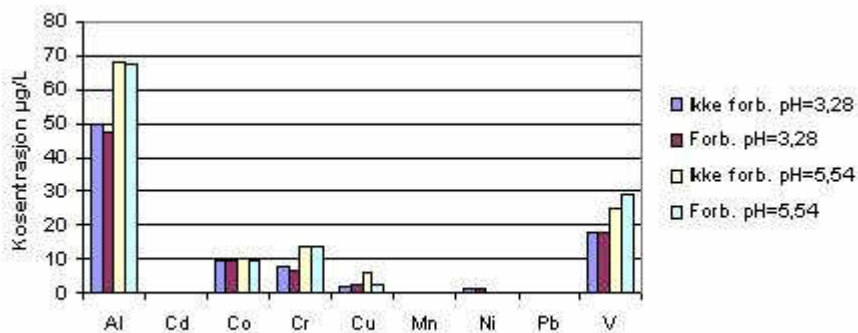
Figur 24 Effekten av å forbehandle SPE-kolonnene og effekten av å endre pH når 100 mg/L HA, hydrogenkarbonatbuffer og 100 µg/L metaller er i prøven. Konsentrasjoner i µg/L.



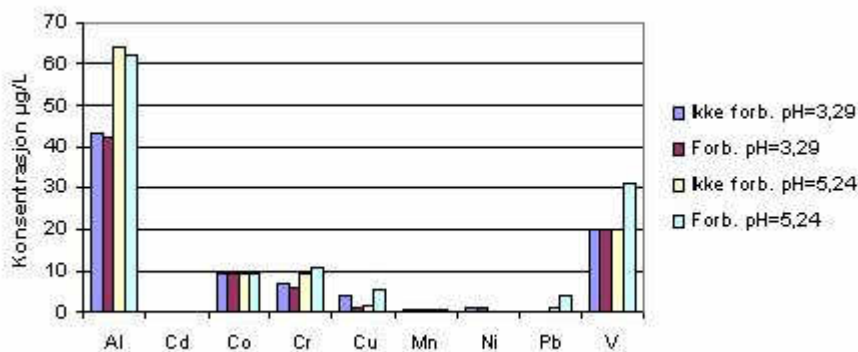
Figur 25 Effekten av å forbehandle SPE-kolonnene, effekten av å endre pH og effekten av Ca, Mg og Na i prøven når 100 mg/L HA, hydrogenkarbonatbuffer og 100 µg/L metaller er i prøven. Konsentrasjoner i µg/L.



Figur 26 Effekten av å forbehandle SPE-kolonnene og effekten av å endre pH når 10 mg/L HA, hydrogenkarbonatbuffer og 100 µg/L metaller er i prøven. Konsentrasjoner i µg/L.



Figur 27 Effekten av å forbehandle SPE-kolonnene, effekten av å endre pH og effekten av Ca, Mg og Na når 10 mg/L HA, hydrogenkarbonatbuffer og 100 µg/L metaller er i prøven. Konsentrasjoner i µg/L.



Figur 28 Effekten av å forbehandle SPE-kolonnene, effekten av å endre pH og effekten av Ca, Mg og Na når hydrogenkarbonatbuffer og 100 µg/L metaller er i prøven. Konsentrasjoner i µg/L.

Forbehandling med hydrogenkarbonatbuffer hadde liten betydning for resultatene.

Forbehandling med hydrogenkarbonatbuffer hadde mindre betydning enn når SPE-kolonnene var forbehandlet med acetatbuffer. Selv om forbehandling med acetatbuffer ga litt bedre resultater for noen av metallene (avsnitt 3.9.4) ble det bestemt å droppe forbehandling i det videre arbeidet. Dette ble bestemt, fordi betydningen av forbehandling var relativt liten, og fordi bruk av SPE-kolonner uten forbehandling er å foretrekke i feltarbeid.

Stolpediagrammene viser at særlig for Al, Cr og V, kan pH påvirke hvordan metallene bindes til SPE-kolonnene. Lav pH ser ut til å binde mer metaller til SPE-kolonnene, enn høy pH. Dette kan sannsynligvis skyldes hydrolyse av Al, Cr og V. Ca, Mg og Na i prøven påvirker også hvordan metall bindes til humus. Mye Ca, Mg og Na i prøven ser ut til å medføre at mindre av Cr, Cu, Ni og Pb blir kompleksbundet til humus.

100 mg/L med HA medfører at mer metall passerer SPE-kolonnen, sammenliknet med når 10 mg/L HA er tilsatt prøven. Dette kan forklares med at 100 mg/L HA kompleksbinder mer metaller enn 10 mg/L HA. Dette stemmer med resultatene i avsnitt 3.9. Når humus ikke var tilsatt i prøve, fås mindre metaller ut av SPE-kolonnen. Dette stemmer med at metallene ikke var kompleksbundet til humus, og derfor ble bundet til SPE-kolonnen. Samtidig viser resultatene at mer slipper igjennom SPE-kolonnen, enn det som ble vist i avsnitt 3.4. Dette kan skyldes en annen prøvematriks (en annen buffer i prøven), eller at mye Ca, Mg og Na påvirker hvordan metaller bindes til SPE-kolonnen.

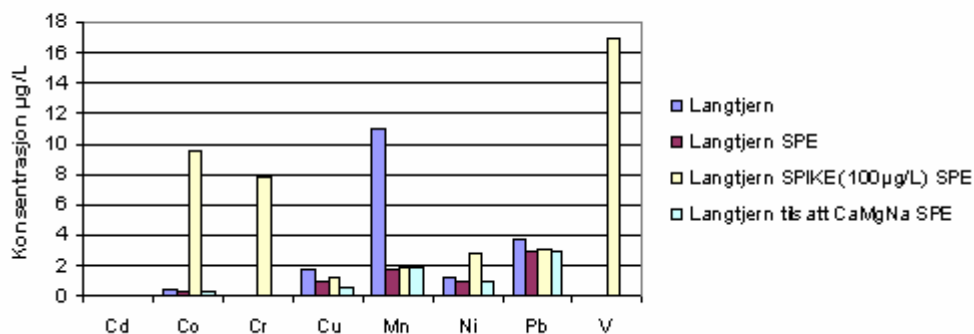
3.10 Langtjern

Hensikten med dette forsøket var å teste om Humic Acid fra Aldrich oppførte seg på samme måte som humus i en naturlig vannprøve. En vannprøve fra Langtjern ble benyttet til disse forsøkene. Data på denne vannprøven, analysert av Norsk institutt for vannforskning (NIVA), ble gitt av miljøkjemigruppen på Universitetet i Oslo. Se Tabell 9.

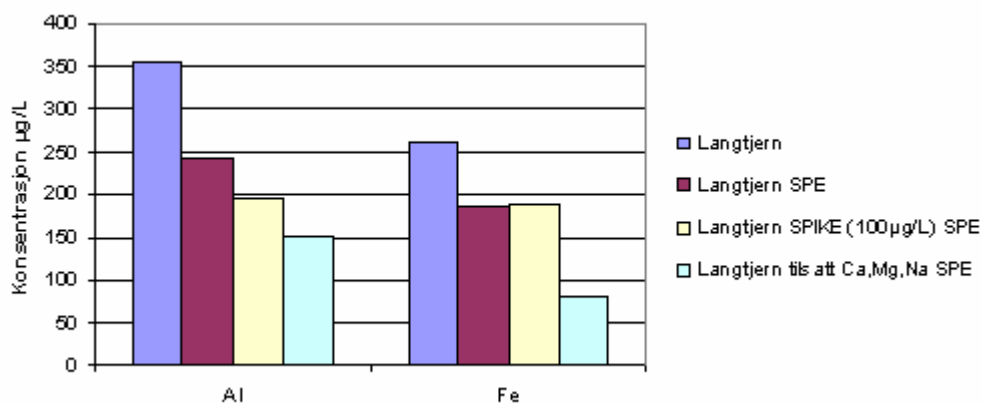
Tabell 9 Verdier på Langtjern prøven, analysert av NIVA.

Parameter	Verdi
pH	5
Ca	1,16 mg/L
Mg	0,16 mg/L
Na	0,69 mg/L
TOC	12,8 mg/L C

Konsentrasjonen av metaller i vannprøven fra Langtjern ble bestemt både i forkant av og etter SPE. I tillegg ble en prøve spiket med 100 µg/L av de metallene det analyseres på, fordi det antas at Langtjern inneholder lave konsentrasjoner av metaller. En prøve ble spiket med 40 mg/L Ca, 73 mg/L Mg og 5,7 mg/L Na (avsnitt 2.8.1), fordi Langtjern, i følge NIVA sine analyser, inneholder lavere verdier av Ca, Mg og Na enn det som har blitt benyttet i tidligere analyser. Resultatene vises i Figur 29. Det ble også analysert Al og Fe på ICP-AES. Resultatene vises i Figur 30.



Figur 29 Totalbestemmelse av Langtjern, Langtjern vært igjennom en SPE-kolonne, Langtjern spiket med 100 µg/L metaller igjennom en SPE-kolonne og Langtjern tilsatt Ca, Mg og Na igjennom en SPE-kolonne. Konsentrasjoner i µg/L.



Figur 30 Al og Fe ble analysert på de samme Langtjern prøvene som i Figur 29. Analysene er utført på ICP-AES. Konsentrasjoner i µg/L.

Resultatene viser at det er høye konsentrasjoner av både Al og Fe i Langtjern. Når Langtjern prøven har igjennom en SPE-kolonne bindes litt metaller, (mengde metaller varierer fra metall til metall, se Figur 29 og Figur 30 for mengde). Det betyr at mye av metallene i prøven er bundet til humus. Ut i fra resultatene over er det mulig å regne seg frem til hvor mye metall som foreligger som fritt metall i prøven, det vil si mengde metall som blir sittende igjen på SPE-kolonnen.

Differansen mellom spiket prøve fra Langtjern som har vært igjennom SPE-kolonnen og Langtjern prøven som har vært igjennom SPE-kolonnen, er mindre enn spiket konsentrasjon,

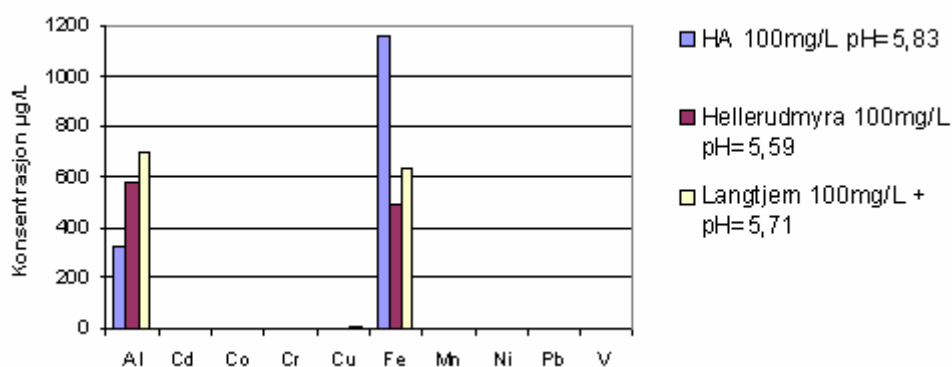
100 µg/L. Det betyr at metallene som ble brukt til å spike prøven ikke har blitt bundet til humus, men foreligger som fritt metall og har blitt bundet til SPE-kolonnen.

Når konsentrasjonen av Ca, Mg og Na i Langtjern øker, så bindes mer metaller til SPE-kolonnen. Det kan tyde på at Ca, Mg og Na er med på å fortrenge metaller fra humus.

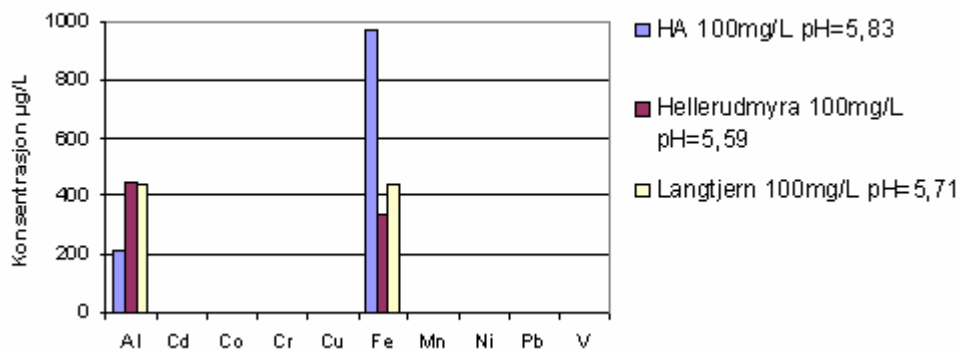
3.11 Sammenlikning av Humic Acid og RO-isolater

Humus kan ha svært forskjellige egenskaper. Det var derfor av interesse å gjøre noen forsøk for å finne ut om HA og RO-isolater fra Langtjern og Hellerudmyra har de samme egenskapene. Forsøkene ble gjort med både 20 og 100 mg/L humus tilsatt prøvene. Prøvene ble analysert både før de har vært igjennom SPE-kolonnen og etter SPE-kolonnen.

Resultatene vises i Figur 31 og Figur 32.



Figur 31 Mengde metaller i 100 mg/L løsningene med HA, RO-isolatene Hellerudmyra og Langtjern, før SPE-kolonne. Alle prøvene er tilsatt acetatbuffer. Al og Fe er analysert på ICP-AES. Konsentrasjoner i µg/L.



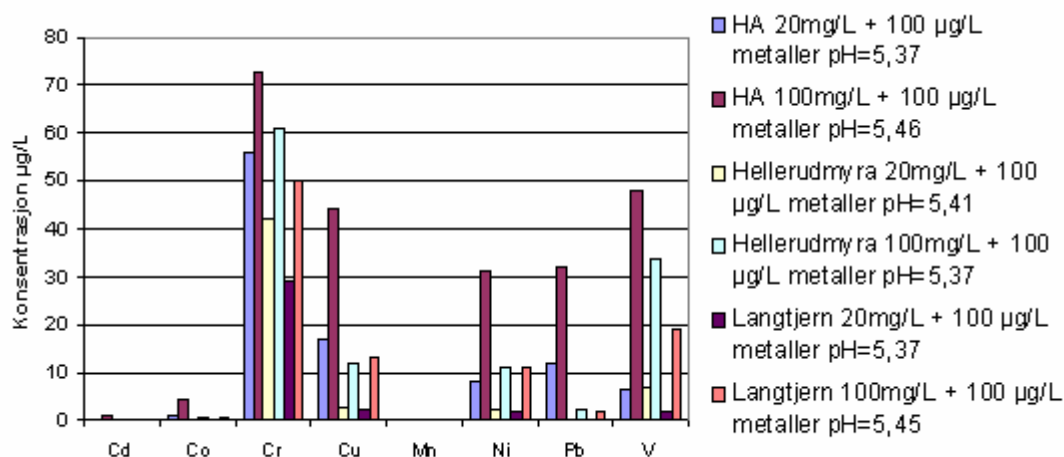
Figur 32 Mengde metaller i 100 mg/L løsninger med HA, RO-isolatene Hellerudmyra og Langtjern som har vært igjennom SPE-kolonner. Alle prøvene er tilsatt acetatbuffer. Al og Fe er analysert på ICP-AES. Konsentrasjoner i µg/L.

Det ble funnet at alle prøvene inneholder metall konsentrasjoner under deteksjonsgrensene, med unntak av Al og Fe. Det var ikke overraskende at RO inneholder lite metaller, siden en del av prosessen med å lage RO-isolatet er å bruke kationbytter, se avsnitt 1.3.1.

Kationbytteren har bundet fritt metall i vannet. En stor del av Al og Fe som finnes i RO-isolatene, er altså kompleksbundet til humus. Resultatene viser at HA inneholder ca halvparten så mye Al og ca dobbelt så mye Fe som begge RO isolatene. Det er altså en forskjell i sammensetningen til humusen som brukes. Kanskje skyldes dette at HA er laget i fra jord, mens RO-isolatene er laget ut i fra naturlig vann. Resultatene viste at SPE-kolonnene hadde bundet ca en tredel av metallene. Det var derfor nødvendig å tilsette syre for å spalte metall-humuskompleksbindingene, slik at totalt metall kunne bindes.

De samme forsøkene ble gjort ved å spike prøvene med 100 µg/L metaller. Resultatene vises i Figur 33. Al og Fe er utelatt fra figuren, fordi konsentrasjonene er så høye at det ville være vanskelig å se konsentrasjonen av de andre metallene på figuren. I tillegg er konsentrasjonen av Al og Fe som finnes i prøvene, flere ganger høyere enn spike konsentrasjonen.

Konsentrasjonene uten spike er allerede vist i Figur 31 og Figur 32. Derfor er det liten hensikt å se på Al og Fe i denne sammenhengen.



Figur 33 Mengden av 100 µg/L metaller, som har blitt bundet til humus tilsatt prøven. Prøvene har vært igjennom SPE-kolonner, slik at fritt metall er bundet til kolonnen. Konsentrasjoner i µg/L.

Figur 33 viser hvor mye metaller som har dannet metall-humuskomplekser med humus tilsatt prøven. Stolpediagrammet viser at Cd, Co og Mn danner svært lite metall-humuskomplekser. Cr er metallet som danner mest kompleksbindinger med humus. HA danner mer komplekser enn Langtjern og Hellerudmyra. 100 mg/L humus danner mer metall-humuskomplekser enn 20 mg/L for alle tre typer humus.

3.12 Oppkonsentrering

Formålet med disse forsøkene er å bruke en SPE-kolonne til både å samle totalt metall og oppkonsentrere metall i en vannprøve. For å få til dette tilsettes syre i prøvene, for å spalte metall-humuskompleksbindingene, se avsnitt 3.9.3. Det er ofte lave metall konsentrasjoner i naturlig vann og det er derfor interessant å bruke et stort volum til oppkonsentrering på SPE-kolonnen og spike med lave konsentrasjoner. For Al og Fe er det nødvendig å spike med høyere konsentrasjoner, siden det er høye blindprøveverdier fra SPE-kolonnene og fordi det som regel er høye Al og Fe konsentrasjoner i naturlig vann.

Det har tidligere blitt vist at tilsetting av 0,1 M HNO₃ til prøve fungerer for å spalte metall-humus kompleksene og at totalt metall dermed blir bundet til SPE-kolonnene, se avsnitt 3.9.3. Alle prøvene i oppkonsentrerings forsøk ble tilsatt HNO₃ i forskjellige konsentrasjoner. I de første forsøkene ble 0,1 M HNO₃ tilsatt.

Det ble benyttet minst mulig elueringsvolum, for å få en størst mulig oppkonsentrering. Ved 1 gangers oppkonsentrering er prøve- og elueringsvolum 20 mL. Prøvene ble eluert med 10 mL 1 M HNO_3 når prøvevolum er 100, 250, 500 og 1000 mL.

Av praktiske årsaker ble det ikke brukt 20 mL plasticsprøyte som tidligere. Prøvene ble pumpet igjennom SPE-kolonnene ved å bruke en peristaltisk pumpe med en pumpehastighet på 10 mL/min. Hastigheten velges fordi det er den raskeste hastigheten som det tidligere har blitt vist fungerer bra, se avsnitt 3.7.2.

Noe av prøve som var igjennom SPE-kolonnene ble samlet opp, for å vise at metallene ble bundet til kolonnene. Noe Al og Fe passerte SPE-kolonnene. Mengde Al og Fe som passerer SPE-kolonnene avhenger av hvor mye prøven er spiket, om prøven er tilsatt humus og hvor mye syre som er tilsatt. For Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb og V passerer mindre enn 3 % SPE-kolonnene.

I de innledende oppkonsentreringsforsøkene benyttes både HA og RO-isolater fra Langtjern og Hellerudmyra, som kilde til humus i forsøkene. Det ble brukt en humus konsentrasjon på 20 mg/L. Det ble laget 1000 mL prøver, både uspiket og spiket med 2 $\mu\text{g/L}$ metaller. Metallene blir forsøkt oppkonsentrert 100 ganger. Resultatene viser at oppkonsentreringen fungerer meget dårlig. Det var stor variasjon mellom metallene hvor mye som ble oppkonsentrert, men for mange metaller var recovery ca 20 %.

På bakgrunn av dette ble det forsøkt både å oppkonsentrere et mindre volum og/eller spike med en høyere metall konsentrasjoner, for å se om recovery ble høyere. I forsøkene ble det brukt prøver med volum på 20, 100, og 1000 mL. Det ble forsøkt å oppkonsentrere prøver uten tilsatt humus. Prøver uten humus spiktes med 10 eller 100 $\mu\text{g/L}$ metaller. Det ble også laget prøver med volumer på 20, 100 og 1000 mL tilsatt 20 mg/L RO Hellerudmyra, som ble spiket med 10 $\mu\text{g/L}$ metaller. 20 mL prøve ble oppkonsentrert 1 gang, mens 100 og 1000 mL prøve henholdsvis ble oppkonsentrert 10 og 100 ganger.

Resultatene viste at 1 og 10 gangers oppkonsentrering generelt ga 70-90 % recovery.

Resultatene viste også at oppkonsentrering av 1000 mL tilsatt 0,1 M HNO_3 , spiket med 10 $\mu\text{g/L}$ eller 100 $\mu\text{g/L}$ ikke fungerer, fordi det for flere av metallene ble recovery rundt 10 %.

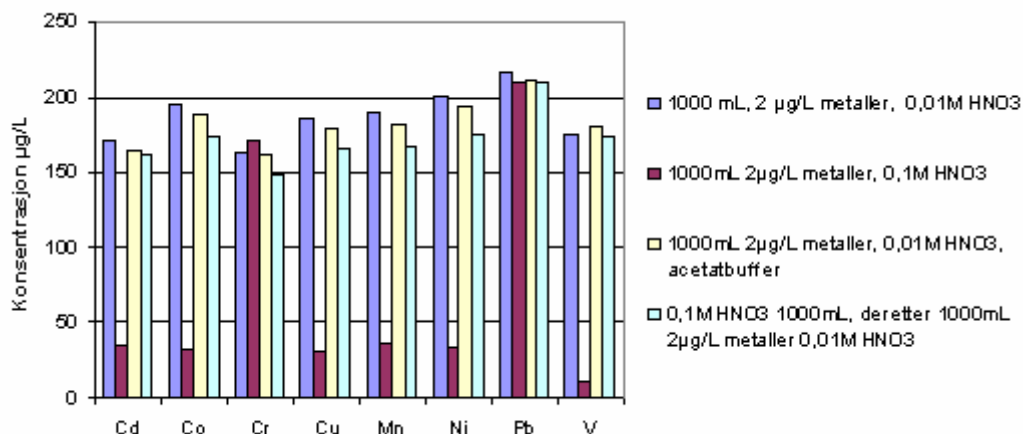
Det kan se ut som recovery og antall gangers oppkonsentrering er avhengig av mengde prøve som har vært igjennom SPE-kolonnene. For å se om dette er tilfelle, ble det forsøkt med 250 og 500 mL prøve med konsentrasjoner på 1, 2 og 10 µg/L. Det ble også forsøkt å spike 100 mL prøve med 1 µg/L metaller. Resultatene viste at 100 mL prøve, oppkonsentrert 10 ganger, spiket med 1 µg/L metaller gir et recovery på ca 75-95 %. For 250 mL prøve ble recovery ca 60 % og for 500 mL ca 30 %.

Det kan virke som om SPE-kolonnenes ionebytterkapasitet overskrides, når det tydelig vises at kolonnen binder mindre når volumet øker. Dette stemmer ikke med teori om ionebytterkapasitet, for som forklart i avsnitt 1.1, har SPE-kolonnen meget stor kapasitet og burde tåle disse forsøkene som har blitt gjort. I tillegg holdes recovery konstant innenfor samme volum, selv om konsentrasjonen øker. For eksempel gir 500 mL spiket med 1 µg/L metaller og 500 mL spiket med 10 µg/L metaller, tilnærmet samme recovery. Det tyder på at ionebytterkapasiteten ikke er overskredet.

3.12.1 Effekten av mye syre på SPE-kolonnene

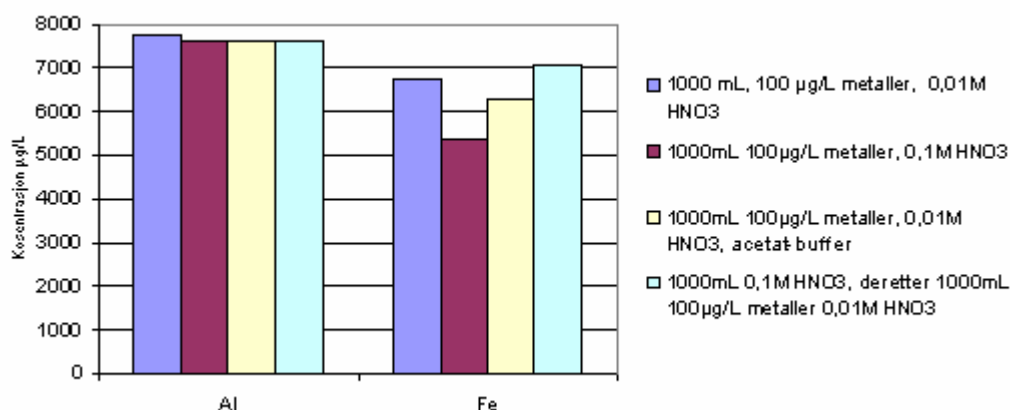
En faktor som kan påvirke ionebyttingen i SPE-kolonnene er pH, fordi SPE-kolonnene er pakket med silika. Som forklart i avsnitt 1.1, fungerer silika best i pH området 2-7,5. Prøvene med 0,1 M HNO₃ hadde en pH på litt over 1, mens prøver med 0,01 M HNO₃ hadde en pH på ca 2,5. Store prøvevolum medfører at det blir tilført mer syre på SPE, selv om syre konsentrasjonen er den samme. Det ble derfor forsøkt å gjøre noen av de samme forsøkene med 0,01 M HNO₃ tilsatt prøven.

Det ble gjort forsøk for å undersøke om store mengder syre på SPE-kolonnene påvirker hvordan kolonnene binder metaller. Siden resultatene viser at 1000 mL prøve med 0,1 M HNO₃ gir meget dårlige resultater, er det interessant å se om denne syremengden ødelegger SPE-kolonnen. For å undersøke dette har 1000 mL 0,1 M HNO₃ igjennom en SPE-kolonne, før prøve har igjennom. Prøve som benyttes er 1000 mL med 2 µg/L metaller og 0,01 M HNO₃. Denne prøven ble også analysert uten at 1000 mL med 0,1 M HNO₃ hadde vært igjennom SPE-kolonnen først. På den måten kunne det sees om syre på en SPE-kolonne påvirker resultatet. Resultatene vises i Figur 34.



Figur 34 Mengde metaller som ble eluert ut av SPE-kolonnene ved bruk av 10 mL 1 M HNO₃. 1000 mL prøve spiket med 2 µg/L metaller oppkonsentreres 100 ganger. Prøvene er tilsatt henholdsvis 0,01 M HNO₃, 0,1 M HNO₃, 0,01 M HNO₃ og acetatbuffer og for en prøve har 1000 mL 0,1 M HNO₃ igjennom SPE-kolonnen før prøven med 0,01 M HNO₃. Konsentrasjoner i µg/L.

Stolpediagrammet viser at 0,1 M HNO₃ tilsatt prøven, medfører at lite metaller elueres. Ved å tilsette 0,01 M HNO₃ til prøven elueres mye mer metaller. 2 µg/L metaller i 1000 mL prøve som oppkonsentreres 100 ganger, skulle gi en verdi på 200 µg/L metaller, hvis metoden fungerer optimalt. Ved bruk av 0,01 M HNO₃, viser figuren at det elueres fra 160 µg/L og oppover, det vil si over 80 % recovery. Prøver med og uten acetatbuffer gir omtrent like høye verdier. 1000 mL 0,1 M HNO₃ på SPE-kolonnen før prøve, medfører at resultatene blir ca 2-10 % lavere enn samme prøve som har vært igjennom en SPE-kolonnen uten syre. Resultatene som fås med og uten 1000 mL 0,1 M HNO₃ på SPE-kolonnen før prøve, er såpass like at det ikke kan konkluderes med at syren ødelegger egenskapene til SPE-kolonnene. Resultatene for Al og Fe kan sees i Figur 35.

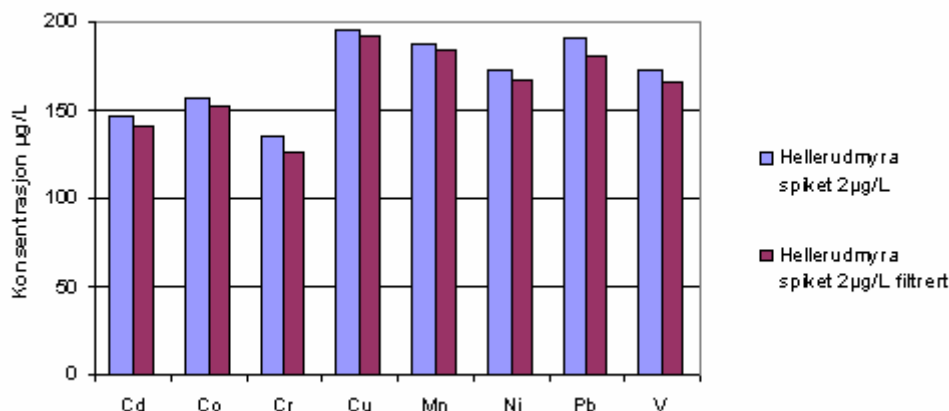


Figur 35 Mengde metaller som ble eluert ut av SPE ved bruk av 10 mL 1 M HNO₃. Prøvene er de samme som i Figur 36. Prøvene er analysert på ICP-AES. Konsentrasjoner i µg/L.

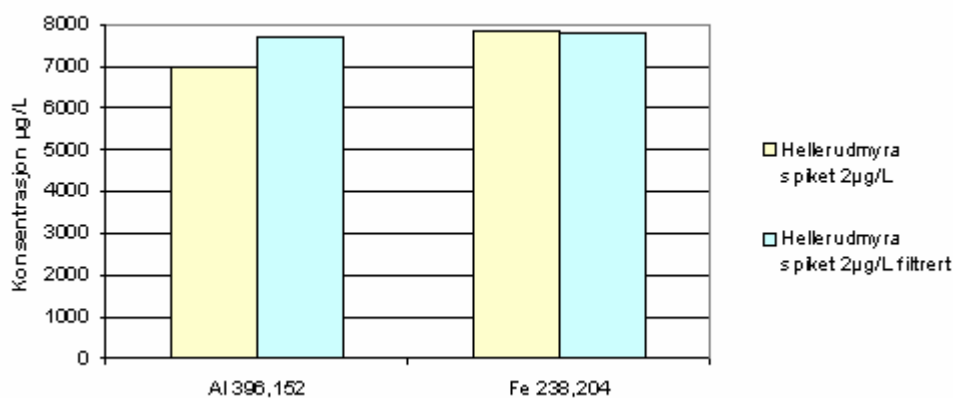
100 µg/L metaller i 1000 mL prøve oppkonsentrert 100 ganger, skulle gi en verdi på 10000 µg/L metaller hvis metoden fungerer optimalt. For Al fås recovery opp til 78 %, mens Fe får recovery fra 53 til 70 %. Stolpediagrammet viser at 0,01 M HNO₃ i prøven gir høyere recovery verdier enn 0,1 M HNO₃, unntatt for Cr. Forskjellen mellom 0,01 M og 0,1 M HNO₃ tilsatt prøvene er mindre for Al, Fe og Pb enn for Cd, Co, Cu, Mn, Ni, og V.

3.12.2 Oppkonsentrering av prøver med humus og effekten av sprøytefilter før SPE

I avsnitt 3.9.3 ble det vist at tilsetning av 0,01 M HNO₃ i en prøve med 10 mg/L HA, medførte at totalt metall i en prøve ble bundet til en SPE-kolonne. Det er interessant å se om prøver tilsatt RO Hellerudmyra oppfører seg på samme måte. Hellerudmyra ble tilsatt prøvene i en konsentrasjon på 20 mg/L. Det ble også sett på om sprøytefilterene før SPE-kolonnene påvirker resultatet. Derfor ble det laget to like prøver på 1000 mL spiket med 2 µg/L metaller og tilsatt 0,01 M HNO₃. Den ene har igjennom et sprøytefilter før SPE-kolonnen og den andre har direkte igjennom SPE-kolonnen. Hellerudmyra inneholder mye Al og Fe, og en uspiket prøve som ikke har vært igjennom SPE blir analysert for å kunne vite hvor mye metaller som oppkonsentreres. Denne uspikede prøven gir null for alle metaller utenom Al og Fe, der resultatene er 111 µg/L for Al og 90 µg/L for Fe. Disse metallene er i tillegg til spike på 2 µg/L. Forventede konsentrasjoner hvis 100 gangers oppkonsentrering fungerer optimalt, blir dermed 11300 µg/L for Al, 9200 µg/L for Fe og 200 µg/L for de andre metallene. Prøvene blir som forklart i avsnitt 3.12, eluert med 20 mL 1 M HNO₃. Resultatene vises i Figur 36 og Figur 37.



Figur 36 20 mg/L RO fra Hellerudmyra oppkonsentreres 100 ganger, med og uten sprøytefilter. Konsentrasjoner i µg/L.



Figur 37 Al og Fe verdier når 20 mg/L RO fra Hellerudmyra oppkonsentreres 100 ganger med og uten sprøytefilter. Prøvene er analysert på ICP-AES. Konsentrasjoner i µg/L.

Stolpediagrammene viser at sprøytefilter har liten betydning for resultatene. For Al blir resultatet ca 10 % høyere med sprøytefilter, noe som kan skyldes at sprøytefilteret er kontaminert med Al. For de andre metallene blir resultatene ca 5-10 % lavere. Dette skyldes trolig at metaller ble sittende igjen på filteret. Oppkonsentreringen med 0,01 M HNO₃ gir et recovery fra ca 60 % til nesten 100 %.

3.12.3 Metode for oppkonsentrering

Det har i avsnittene 3.12, 3.12.1 og 3.12.2 blitt utviklet en metode for oppkonsentrering av metaller på kommersielle SPE-kolonner. Det ble brukt et prøvevolum på 1000 mL. Prøven tilsettes 0,01 M HNO₃, for å spalte metall-humuskompleksbindingen. Deretter elueres prøven

med 10 mL 1 M HNO_3 . Det ble altså foretatt en 100 gangers oppkonsentrering. Recovery for metoden var ca 60-100 %.

Det ble ikke foretatt flere oppkonsentreringsforsøk i dette arbeidet. I et eventuelt videre arbeid vil det være interessant å undersøke hvorfor det ikke var mulig å oppkonsentrere 1000 mL på SPE-kolonnene når prøve er surgjort med 0,1 M HNO_3 . Det kan også være interessant å se om recovery kan bli høyere, for eksempel ved å forbehandle SPE-kolonnen. Metoden kan også testes ut for flere metaller.

3.13 Validering

Metoden som har blitt laget og som skal valideres er binding av totalt metall i en naturlig vannprøve til kommersielle SPE-kolonner, sterk kationbytter. Det ble brukt et prøvevolum på 20 mL. Prøven tilsettes HNO_3 , slik at HNO_3 konsentrasjonen i prøven blir 0,1 M. Dette gjøres for å spalte metall-humuskompleksbindingene. Deretter elueres prøven med 20 mL 1 M HNO_3 . Metoden ble laget med tanke på at den skal kunne brukes på en naturlig vannprøve i feltarbeid.

3.13.1 Valideringsprøver

Et passende sertifisert referanse materiale (CRM) ble ikke funnet. Det ble funnet referanseprøver som inneholder verdier for DOC eller for metaller, men det ble ikke funnet noen prøve som har sertifiserte verdier for begge deler. Et annet problem med referansematerialene var at de er tilsatt syre. Denne syre konsentrasjonen er flere ganger høyere enn syrekonsentrasjonen som inngår i metoden, og medfører at materialene ikke kan brukes direkte til validering av metoden. Nøyaktighet, presisjon og linearitet ble derfor funnet ved å spike prøvene med en kjent mengde singel- og multielementstandarder.

For Al og Fe ble det valgt å spike med konsentrasjoner på 500 $\mu\text{g/L}$. 500 $\mu\text{g/L}$ er relativt høye konsentrasjoner, men blir valgt av 3 årsaker: Det er høye blindverdier av Al og Fe i SPE-kolonnene, det finnes Al og Fe i humusen som tilsettes valideringsprøven og det er høye Al og Fe verdier i en naturlig vannprøve. For Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb og V ble det valgt å spike med 100 $\mu\text{g/L}$, fordi det er jobbet mest med denne konsentrasjonen i utviklingen av

metoden. Lineariteten til Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb og V ble undersøkt med 13 prøver i området 10-200 µg/L. Lineariteten til Al og Fe ble undersøkt med 12 prøver i området 100-1000 µg/L. Alle prøvene for bestemmelse av nøyaktighet, presisjon og linearitet ble tilsatt 10 mg/L Ca singelelementstandardløsning, 0,1 M HNO₃ og 20 mg/L Hellerudmyra. pH i valideringsprøven som ble brukt for å finne nøyaktighet og presisjon ble målt til 1,31. Valideringsprøven ble ikke tilsatt buffer. Alle prøvene elueres med 20 mL 1 M HNO₃, og det er denne eluenten det ble analysert på. Blindprøve for valideringen er beskrevet i avsnitt 2.8.7.

3.13.2 Nøyaktighet

Avsnitt 2.9.1 beskriver hvordan nøyaktighet ble definert i arbeidet, og avsnitt 3.13.1 beskriver prøvene som brukes til bestemmelse av nøyaktighet. Når nøyaktighet skal bestemmes ble det laget 6 prøvereplikater. Hver av disse ble analysert 3 forskjellige dager. Det vil si at beregningene har blitt gjort ut i fra 18 analyser på hvert grunnstoff. Analyseresultatene er oppgitt i Appendiks F. Resultatene er presentert i Tabell 10.

Tabell 10 Resultater fra bestemmelsen av nøyaktighet til metoden.

Metall	Spike µg/L	Målt verdi ± 95 % konfidensintervall, µg/L	SD, µg/L	RSD %	Recovery ± 95 % konfidensintervall µg/L
Al	500	435,4 ± 4,5	8,98	2,1	87,1 ± 0,91
Cd	100	87,2 ± 0,53	1,06	1,2	87,2 ± 0,53
Co	100	95,6 ± 0,95	1,91	2,0	98,6 ± 0,95
Cr	100	93,1 ± 0,90	1,81	1,9	93,1 ± 0,90
Cu	100	91,1 ± 0,80	1,60	1,8	91,1 ± 0,80
Fe	500	359,6 ± 7,0	14,1	3,9	71,9 ± 1,4
Mn	100	98,6 ± 0,98	1,97	2,0	98,6 ± 0,98
Ni	100	92,9 ± 0,77	1,55	1,7	92,9 ± 0,77
Pb	100	101,2 ± 1,1	2,23	2,2	101,2 ± 1,1
V	100	98,3 ± 0,89	1,78	1,8	98,3 ± 0,89

Ved bestemmelse av 95 % konfidensintervall til recovery for Al og Fe, ble standardavviket til alle recovery verdiene beregnet først. Denne verdien ble brukt til å beregne 95 % konfidensintervall til recovery. For de andre metallene ble standardavviket beregnet ut i fra alle målte verdier, siden målt verdi og recovery i disse tilfellene blir samme tall.

Fe har laveste recovery (71,9 %), noe som kan forklares med at SPE-kolonnene ikke binder alt Fe som har igjennom kolonnen. Det samme gjelder også for Al (87,1 %), men i mindre grad. Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb og V har alle recovery over 90 %. Disse resultatene er bra, til tross for det er noe usikkerhet i metoden. Største usikkerheten i metoden er antagelig at ikke alt metall blir eluert fra SPE, se avsnitt 3.5.2. Ca i prøven medførte muligens også at recovery ble noe lavere enn hvis dette ikke hadde vært tilsatt i så høy konsentrasjon, se avsnitt 3.9.5.

Nøyaktighet når prøve ikke er tilsatt 0,1 M HNO₃

Det skal undersøkes hvilken betydning pH har for resultatene. Det ble laget en prøve lik valideringsprøven beskrevet i avsnitt 3.13.1, men det ble ikke tilsatt 0,1 M HNO₃. Den opprinnelige tanken var at prøven skulle likne en naturlig vannprøve. pH i prøven ble målt til 2,06, noe som skyldes at standard løsningene i prøven er tilsatt syre som påvirker pH. pH i 20 mg/L Hellerudmyra, uten tilsatt standardløsninger med metaller eller 0,1 M HNO₃ ble målt til 4,89. Det ble laget en løsning uten Ca standardløsning, men med de andre metallene. Da ble pH målt til 2,86. pH påvirkes altså tydelig av de tilsatte standardløsningene. Det ble laget 5 prøvereplikater som ble analysert samme dag. Gjennomsnittet av resultatene vises i Tabell 11.

Tabell 11 Resultater fra bestemmelsen av nøyaktighet, når valideringsprøve ikke er tilsatt 0,1 M HNO₃.

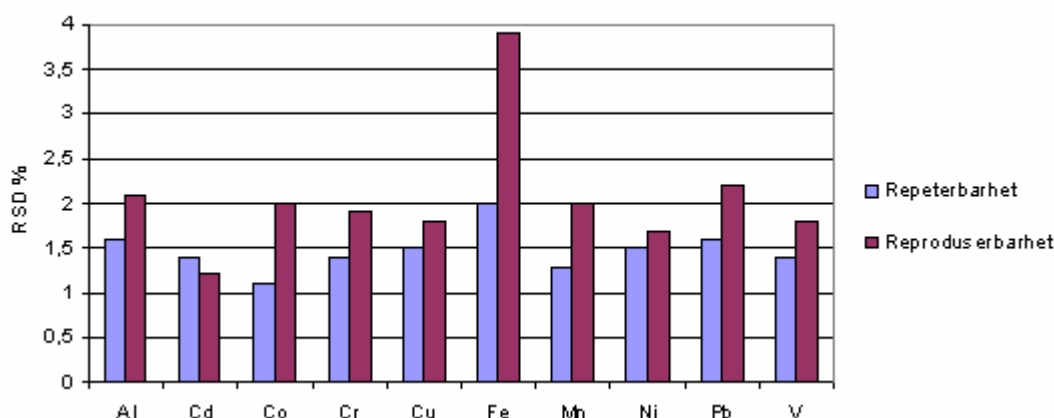
Metall	Spike µg/L	Målt verdi ± 95 % % konfidens intervall, µg/L	SD, µg/L	RSD %	Recovery ± 95 % konfidensintervall µg/L
Al	500	494 ± 9,2	7,38	1,5	98,8 ± 1,8
Cd	100	84,4 ± 1,4	1,14	1,4	84,4 ± 1,4
Co	100	90,6 ± 1,1	0,89	0,99	90,6 ± 1,1
Cr	100	87,2 ± 1,0	0,84	0,96	87,2 ± 1,0
Cu	100	86,2 ± 1,0	0,84	0,97	86,2 ± 1,0
Fe	500	420 ± 11	9,21	2,2	83,9 ± 2,2
Mn	100	92,2 ± 1,0	0,84	0,91	92,2 ± 1,0
Ni	100	89,0 ± 0,88	0,71	0,79	89,0 ± 0,9
Pb	100	98,0 ± 8,6	6,89	7,0	98,0 ± 8,6
V	100	93,0 ± 1,5	1,22	1,3	93,0 ± 1,5

Ved pH=2,06 ble det for alle metallene unntatt Al og Fe, ca 3-8 % lavere recovery, enn resultatene i Tabell 10, der prøven er tilsatt 0,1 M HNO₃ og pH ble målt til 1,31. Tidligere forsøk viser at det er grunn til å tro at recovery ville ha vært lavere med høyere pH, som det vil være i en naturlig vannprøve, se avsnitt 3.10. Mest sannsynlig er pH=2,06 i prøven så lav

at metall-humuskompleksbindingene begynner og spaltes. Det er interessant å se at for Al og Fe ble recovery høyere når pH var 2,06 enn når pH var 1,31.

3.13.3 Presisjon

Avsnitt 2.9.2 beskriver hvordan presisjon er definert i dette arbeidet. Prøven beskrevet i avsnitt 3.13.1 er brukt. Resultatene vises i Figur 38 og i Appendiks F.



Figur 38 Repeterbarhet og reproduserbarhet til metoden uttrykt som RSD %.

Stolpediagrammet viser at for Fe er reproduserbarheten, men ikke repeterbarheten, dårligere enn for de andre metallene. Med unntak av reproduserbarheten til Fe, er generelt repeterbarhet og reproduserbarhet bedre enn 2,2 %.

3.13.4 Linearitet

Avsnitt 2.9.3 beskriver hvordan linearitet ble definert i dette arbeidet. For å undersøke metodens og instrumentets linearitet brukes prøvene beskrevet i avsnitt 3.13.1. For å undersøke metodens linearitet tas 20 mL av prøvene igjennom SPE-kolonnene og det elueres med 20 mL 1 M HNO₃. For å undersøke lineariteten til instrumentet analyseres det også direkte på løsningene.

En korrelasjonskoeffisient $R^2 > 0,985$ ble sett på som tilfredsstillende (Døhl og Tønseth, 1996). Det viste seg at alle regresjonslinjer oppfyller dette kravet siden verdiene er $R^2 > 0,99$. For grafisk fremstilling, se Appendiks G. Tabell 12 viser korrelasjonskoeffisientene.

Tabell 12 Lineariteten til metoden og instrumentet uttrykt som R^2 .

Metall	Lineariteten til metoden, R^2	Lineariteten til instrumentet, R^2
Al	0,998	0,9988
Cd	0,9995	0,9999
Co	0,9995	0,9998
Cr	0,9994	0,9997
Cu	0,9977	0,9975
Fe	0,9972	0,9994
Mn	0,9995	0,9997
Ni	0,9996	0,9998
Pb	0,9993	0,9996
V	0,9976	0,9997

3.13.5 Deteksjon- og kvantifiseringsgrenser

Deteksjon- og kvantifiseringsgrenser ble funnet ved å analysere 1 blankprøve 10 ganger. Blankprøven som ble brukt er 20 mg/L Hellerudmyra tilsatt 10 mg/L Ca standard og 0,1 M HNO_3 . Blankprøven har igjennom SPE-kolonnen, og det som passerer kolonnen analyseres. LOD og LOQ er beregnet som beskrevet i avsnitt 2.9.4. Tabell 13 viser resultatene. Grafisk fremstilling av regresjonslinjene vises i Appendiks H.

Tabell 13 Resultater fra LOD og LOQ analysene.

Metall	$y=bx+a$	R^2	S_b , CPS	LOD, $\mu\text{g/L}$	LOQ, $\mu\text{g/L}$
Al	$y=3,3396x + 72,237$	0,9999	9,410	8,5	28
Cd	$y=1098,9x + 2954,2$	0,9982	9,146	0,025	0,083
Co	$y=3056,4x + 7115,8$	0,9982	12,09	0,012	0,040
Cr	$y=262,49x + 949,64$	0,9983	11,42	0,13	0,44
Cu	$y=1437x + 1709,5$	0,9996	18,39	0,038	0,13
Fe	$y=1,1092x + 17,887$	0,9998	4,662	13	42
Mn	$y=3542,7x + 9648,8$	0,9983	87,06	0,074	0,25
Ni	$y=662,25x + 1473,5$	0,9981	45,83	0,21	0,69
Pb	$y=2589,8x + 6331,9$	0,9982	110,9	0,13	0,43
V	$y=2354,4x + 5922,5$	0,9983	10,11	0,013	0,043

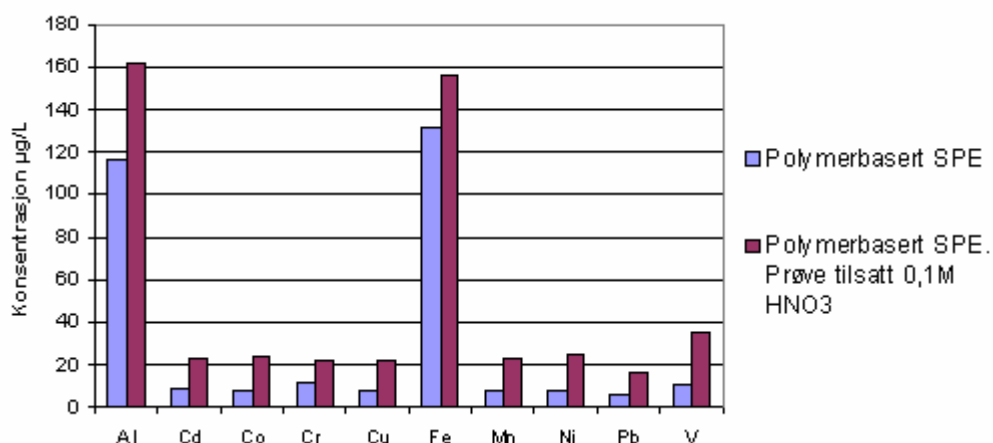
Al og Fe har høyere deteksjonsgrenser enn de andre metallene, henholdsvis 8,5 og 13 $\mu\text{g/L}$. Dette skyldes at blankprøven inneholder mer Al og Fe enn de andre metallene (kilden til Al og Fe i blank er fra RO Hellerudmyra) og at Al og Fe ble analysert på ICP-AES. ICP-AES har høyere deteksjonsgrenser enn ICP-MS. LOD og LOQ som ble funnet her, ser derfor fornuftig ut.

3.14 Bruk av polymerbaserte SPE-kolonner og sammenlikning med Bond Elut Jr

Metoden har blitt validert og fungerer på silikabaserte SPE-kolonner, Bond Elut Jr fra Varian. Det ble gjort noen forsøk for å undersøke om metoden også fungerer på en polymerbasert SPE-kolonne fra Polymer Laboratories. Begge SPE-kolonnene er kationbytter med benzensulfonsyre. Grunnen til at denne polymerbaserte SPE-kolonne ønskes undersøkt, er at produsenten skriver denne er godt egnet til vannprøver. SPE-kolonne har ikke blitt testet tidligere i arbeidet, fordi det tidligere ikke var kjent at denne type kolonne finnes.

Det ble sett på hvor mye metaller som bindes til denne SPE-kolonne, hvor høye blindverdiene er når det elueres med 1 M HNO₃ og nøyaktigheten ble undersøkt, med samme prøver som i valideringen.

Først ble det sett på den polymerbaserte SPE-kolonnens evne til å binde metaller. Prøvene besto av 20 mg/L Hellerudmyra, 10 mg/L Ca, 500 µg/L Al og Fe, 100 µg/L Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb og V. Det blir tilsatt 0,1 M HNO₃ til den ene prøven, for å undersøke om totalt metall ble bundet til SPE-kolonne. Det ble analysert på løsningen som passerte igjennom SPE, det vil si metallet som ikke ble bundet til kolonne. Resultatene vises i Figur 39.



Figur 39 De polymerbaserte SPE-kolonnenes evne til å binde metaller. I løsningene som har igjennom kolonnene er det tilsatt 20 mg/L Hellerudmyra, 500 µg/L Al og Fe, og 100 µg/L av de andre metallene. Forsøket gjøres både med og uten tilsatt 0,1 M HNO₃ i prøvene. Konsentrasjoner i µg/L.

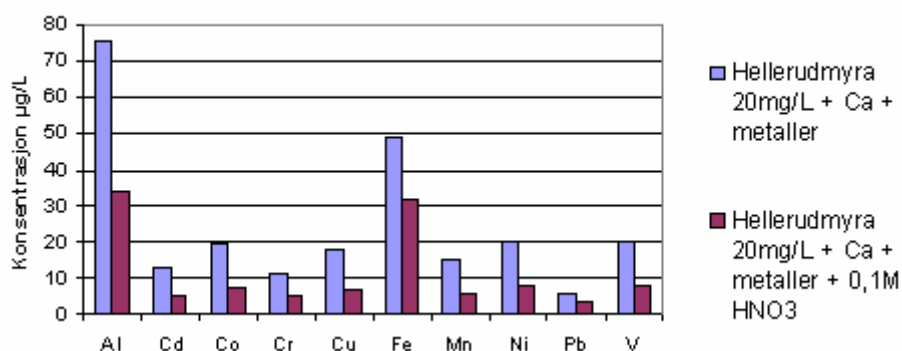
Resultatene i Figur 39 viser at ca 25-30 % Al og Fe, ikke ble bundet til SPE-kolonnen. En del av disse metallene kan være bundet til humus. For Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb og V er det ca 20 % av prøven med 0,1 M HNO₃, som ikke ble bundet til SPE-kolonnen, og ca 10 % av prøven uten HNO₃ som ikke ble bundet til SPE-kolonnen. I motsetning til Bond Elut Jr binder den polymerbaserte kolonnen mindre metaller når det tilsettes 0,1 M HNO₃ til prøve. Ut i fra resultatene ser det ut til at den polymerbaserte kolonnen binder metall dårligere enn Bond Elut Jr.

Et interessant resultat var at blindverdiene for Al og Fe, når 20 mL 1 M HNO₃ has igjennom kolonnen, er mye lavere med polymerbaserte SPE-kolonner, enn med Bond Elut Jr. Se Tabell 14 for blindverdiene for Al og Fe.

Tabell 14 Blindverdier for Al og Fe når 20 mL 1 M HNO₃ passerer polymerbasert SPE-kolonne og Bond Elut Jr.

Metall	Blindverdi til polymer SPE, µg/L	Blindverdi til Bond Elut Jr, µg/L
Al	16	235
Fe	19	41

Det ble utført 5 prøvereplikater for å teste nøyaktigheten. Dette ble gjort med en løsning inneholdende 20 mg/L Hellerudmyra, 10 mg/L Ca, 500 µg/L Al og Fe, 100 µg/L Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb og V og både med og uten 0,1 M HNO₃. Resultatene vises i Figur 40.



Figur 40 Viser hvor mye som elueres fra polymerbasert SPE-kolonne med 20 mL 1 M HNO₃. Opprinnelig konsentrasjoner og prøvevolum var 20 mL med 500 µg/L for Al og Fe, og 100 µg/L for de andre metallene. Konsentrasjoner i µg/L.

Resultatene viser at det ble eluert vesentlig mindre metall med polymerbasert SPE-kolonne enn med Bond Elut Jr. Ulempene med polymere SPE-kolonner er at de ikke binder alt metall

som passerer, og lite metall elueres. Fordelen med polymere SPE-kolonner er at blindverdiene til Al og Fe mye lavere enn hos Bond Elut Jr. Det ble ikke gjort flere forsøk med den polymerbaserte SPE-kolonner, siden de ikke fungerer på metoden for å samle totalt metall i SPE-kolonner. Det må eventuelt utvikles en helt ny metode for å kunne bruke disse kolonnene. Bond Elut Jr fungerer best på den validerte metoden.

KONKLUSJON

Det ble laget en metode for å samle totalt metall i en humusholdig vannprøve på en kommersiell ionebytterkolonne. Den silikabaserte sterke kationbytteren Bond Elut Jr fra Varian fungerte bedre enn kationbytterne IC-Na fra Alltech og polymerbasert SPE-kolonne fra Polymer Laboratories.

Det ble vist at humus og metaller i prøven danner kompleksbindinger relativt raskt. Det ble funnet at elueringsvolum, gjennomstrømningshastighet til prøve og elueringsmiddel igjennom SPE-kolonnene har liten betydning for resultatene. Konsentrasjonen av metall-humuskomplekser i prøven øker, med økende mengde humus i prøven.

I metoden ble prøven surgjort med HNO_3 , slik at prøven fikk en HNO_3 konsentrasjon på 0,1 M. 0,1 M HNO_3 ga pH-verdier på mellom 1 og 1,3 avhengig av prøvematriks. Når prøve er surgjort spaltes metall-humuskompleksbindinger, og fritt metall kan bindes til SPE-kolonnen. Plastsprøyte brukes til å få 20 mL av prøve igjennom en SPE-kolonne og prøve elueres deretter med 20 mL 1 M HNO_3 . Metoden ga et recovery på 71,9-101,2 % for Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb og V. Deteksjonsgrensene for metoden var fra 0,012 til 0,21 $\mu\text{g/L}$ for metallene analysert på ICP-MS. For Al og Fe analysert på ICP-AES var deteksjonsgrensene for metoden henholdsvis 8,5 og 13 $\mu\text{g/L}$.

Det ble også vist at det er mulig å oppkonsentrere prøve på en kommersiell ionebytterkolonne. Sterk kationbytter, Bond Elut Jr fra Varian, ble brukt. Det ble funnet at 0,01 M HNO_3 er en egnet konsentrasjon til å surgjøre prøve, når prøvolum er 1000 mL og elueringsvolum er 10 mL 1 M HNO_3 .

REFERANSER

- Berden, M.; Clarke, N.; Danielsson, L. G.; Sparen, A., 1994. Aluminium speciation: Variations caused by the choice of analytical method and by sample storage. *Water, Air, Soil, Pollut.* 72, 213-233
- Boggs, S.; Livermore, D. G.; Seitz, M. G., 1985. Humic Macromolecules in Natural Waters. *Macromol. Sci. C*25(4), 599-657
- Bulut, V. N.; Duran, C.; Tufekci, M.; Elci, L.; Soylak, M., 2006. Speciation of Cr(III) and Cr(VI) after column solid phase extraction on Amberlite XAD-2010. *J. Hazard. Mater.* 143, 112-117
- Camel, V., 2003. Solid-phase extraction. Mester, Z.; Sturgeon, R. Sample preparation for trace element analysis. *Wilson & Wilsons Comprehensive analytical chemistry*. Elsevier. Nederland. 393-457
- Clarke, N.; Danielsson, L. G.; Sparen, A., 1995. Studies of aluminium complexation to humic and fulvic acids using a method for the determination of quickly reacting aluminium. *Water, Air, Soil, Pollut.* 84, 103-116
- Clarke, N.; Danielsson, L. G.; Sparen, A., 1996. Analytical methodology for the determination of aluminium fractions in natural fresh waters. *Pure & Appl. Chem.* 68(8), 1597-1638
- Døhl, J.; Tønseth, C. P., 1996. Guidelines for Validation of Analytical Methods. Nycomed Imaging. Norge. 2-25
- Fritz, J. S., 1999. Analytical Solid-Phase Extraction. John Wiley & Sons. USA
- Gjessing, E. T.; Egeberg, P. K.; Håkedal, J., 1999. Natural organic matter in drinking water – the "NOM-typing project", background and basic characteristics of original water samples and NOM isolates. *Environ. Int.* 25(2/3), 145-159
- Greibrokk, T.; Lundanes, E.; Rasmussen, K. E., 1984. Kromatografi. Universitetsforlaget. Norge

Haraldsson, C.; Lyvén, B.; Pollak, M.; Skoog, A., 1993. Multi-element speciation of trace metals in fresh water adapted to plasma source mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 284, 327-335

Harris, D. C., 2003. *Quantitative Chemical Analysis*. Sixth Ed. W. H. Freeman and Company. USA

Ketkangplu, P.; Phromdetphaiboon, C.; Unob, F., 2005. Preconcentration of heavy metals from aqueous solution using chitosan flake. *J. Sci. Res. Chulalongkorn Univ.* 30(1), 87-95

Leenheer, J. A.; Croué, J.-P., 2003. Aquatic organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 19-26

Miller, J. N.; Miller, J. C., 2005. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Fifth Ed. Prentice Hall. Storbritannia

Pelekani, C.; Newcombe, G.; Snoeyink, V. L.; Hepplewhite, C.; Assemi, S.; Beckett, R., 1999. Characterization of Natural Organic Matter Using High Performance Size Exclusion Chromatography. *Environ. Sci. Technol.* 33(16), 2807-2813

Rottmann, L.; Heumann, K. G., 1994. Determination of Heavy Metal Interactions with Dissolved Organic Materials in Natural Aquatic Systems by Coupling a High-Performance liquid Chromatography System with an Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer. *Anal. Chem.* 66(21), 3709-3715

Saracoglu, S.; Soylak, M.; Elci, L.; Dogan, M., 2002. Determination of Cu, Fe, Ni, Co, Pb, Cd, Mn and Cr in natural water samples after solid phase extraction on Chromosorb 102. *Anal. Lett.* 35(15), 2603-2616

Schulten, H. R.; Schnitzer, M., 1993. A State of the Art Structural Concept for Humic Substances. *Naturwissenschaften.* 80, 29-30

Sigma-Aldrich Co, 1998. *Guide to Solid Phase Extraction*. Suppelco, Bulletin 910

Sigg, L.; Xue, H., 1994. Metal speciation: Concept, analysis and effects. *Chem. Environ. Sci.* 5, 153-181

Stumm, W.; Morgan, J. J., 1995. Aquatic chemistry. Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters. Third Ed. John Wiley & Sons. USA. 252-305

Tan, S. H.; Horlick G., 1986. Background Spectral Features in Inductively Coupled Plasma/Mass Spectrometry. Appl. Spectrosc. 40(4), 445-460

Tangen, G., 1999. Aluminium- og jernfraksjonering i jordvann og ferskvann ved bruk av kommersielle ionebyttere og bestemmelse med induktivt koblet plasma atomemisjonsspektrometri. Cand scient. Kjemisk institutt. Universitetet i Oslo. Norge

Templeton, D. M.; Ariese, F.; Cornelis, R.; Danielsson, L. G.; Muntau, H.; van Leeuwen, H. P.; Lobinski, R., 2000. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. Pure. Appl. Chem. 72(8), 1453-1470

Thomas, R., 2004. Practical guide to ICP-MS. Marcel Dekker. USA. 129-146

Thurman, E. M., 1985. Organic geochemistry of natural waters. Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers. USA

Vogt, R.; Gjessing, E.; Andersen, D. O.; Clarke, N.; Dagmar, T.; Bishop, K.; Lundstrøm, U.; Starr, M., 2001. Natural Organic Matter in the Nordic countries. Nordtest report, TR 79

Ødegård, K. E.; Lund, W., 1997. Multi-element Speciation of Tea Infusion Using Cation-exchange Separation and Size-exclusion Chromatography in Combination with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. J. Anal. At. Spectrom. 14, 403-408

INNHold APPENDIKS

Appendiks A Varian Bond Elut Jr sertifikat.....	78
Appendiks B Sertifikat til polymer SPE-kolonnen fra Polymer Laboratories	79
Appendiks C Ionebytterkapasitet til Bond Elut Jr fra Varian.....	80
Appendiks D Gjennomstrømningshastighet ved bruk av sprøyte	81
Appendiks E Holdbarheten til humus stamløsning.....	82
Appendiks F Verdier brukt for beregne nøyaktighet og presisjon i valideringen.....	83
Appendiks G Regresjonslinjene viser lineariteten til metoden og instrumentet	84
Appendiks H Kalibreringskurver brukt til beregning av deteksjon- og kvantifiseringsgrenser	91

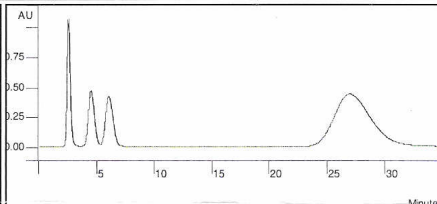
Appendiks A Varian Bond Elut Jr sertifikat

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Sorbent Lot#: 1707206


Raw Silica Lot#: 0028505

Product: BondElut® SCX

Base Silica Physical Properties			
Properties	Specifications	Results	Methods
Specific Surface Area (m ² /g)	460 - 520	490	N ₂ BET
Average Particle Size (μm)	58 - 87	74	Malvern 100
Average Pore Diameter (Å)	47 - 60	56	N ₂ BET
Particle Size Distribution (%)	≤ 20 μm ≤ 31 μm ≥ 80 μm ≤ 12 ≤ 15 ≤ 15	≤ 20 μm ≤ 31 μm ≥ 80 μm 10 15 15	Malvern 100
Bonded Silica Properties			
Properties	Specifications	Results	Methods
Carbon Loading (%C)	5.40 - 13.30	8.82	CHNO-S Analysis
Hydrogen Loading (%H)	1.00 - 4.00	1.79	CHNO-S Analysis
Sulfur Loading (%S)	1.60 - 3.50	2.44	CHNO-S Analysis
Surface Coverage (μmol/m ²)	1.23 - 4.26	2.33	Calculated based on %C
Ion Exchange Capacity (meq/g)	0.60 - 0.90	0.64	Counter Ion Titration
Turbidity (NTU)	≤ 10.0	4.5	Turbidity Meter
Washable Residue (mg/g)	≤ 6.0	1.4	Methanol and Hexane gravimetric
Component Properties and Manufacturing Control			
Properties	Specifications	Results	Methods
Tube Purity	Proprietary	Pass	GC FID Test
Frit Purity	Proprietary	Pass	GC FID Test
Bed Mass Consistency	Proprietary	Pass	Weight Measurement
Flow Characteristics	Proprietary	Pass	2ml Ethyl Glycol 50 psi
HPLC Test Conditions		Probes	
Varian 9100/9010/9050 Column Dimension: 100 X 4.6 mm Flow: 0.5mL/min Detector: UV@254 nm Mobile Phase: Hexane:Dichloromethane:IPA (94:5:1) Test Temperature: 25-30 °C		Toluene Acetophenone Dimethylphthalate Benzylalcohol	

Every Varian product undergoes a series of carefully conducted analyses prior to acceptance and shipment to our customers. This Certificate of Analysis provides the results of some of the critical performance tests used for the evaluation of each of our sorbent lots.

All of the manufacturing and testing processes used in the preparation and evaluation of this product are in accordance with an ISO 9001:2000 regulated Quality Management System. We are always interested in your comments regarding product and quality issues. Feel free to contact us at 800-421-2825, menu 3, option 4.


 Quality Control Manager

 3/21/2006
 Approval Date

 Varian Incorporated 25200 Commercentre Drive, Lake Forest, CA 92630 USA
 Tel: 1-949-770-9381 Fax: 1-949-581-9118 www.varianinc.com

Appendiks figur 1 Figuren viser sertifikatet til Bond Elut Jr fra Varian.

Appendiks B Sertifikat til polymer SPE-kolonnen fra Polymer Laboratories

CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT	PL-SO ₃ H MP Resin 3.0mmol/g 100Å 150-300µm
DESCRIPTION	Polymer supported sulfonic acid
PART NUMBER	3504-#679
BATCH NUMBER	SO3HMP 005

RESIDUAL SOLVENT	Dried to constant weight
COLOUR	Brown
FORM AND APPEARANCE	Spherical beads
PARTICLE SIZE (MEDIAN)	195.0µm
VOLUME OF PARTICLES BETWEEN	150-300µm 99.9% } Taken from base material
LOADING	3.2mmol/g
FTIR SPECTRUM	Consistent with structure

RECOMMENDED STORAGE	Store refrigerated under an inert atmosphere
EXPIRY DATE	November 2010

I CERTIFY THAT THIS MATERIAL MEETS THE REQUIRED SPECIFICATIONS

SIGNED		DATE	13 TH OCTOBER 2005
--------	---	------	-------------------------------

SIGNED		DATE	13 TH OCTOBER 2005
--------	---	------	-------------------------------

PL QUALITY ASSURANCE

ISSUE No 1 13/10/2005

COASPECSPS VER 1.00

UK (+44) 01694 723581
USA 413 253 9554
Benelux (+31) 011 8671500
Germany (+49) 06151 860690
France (+33) 04 91 17 64 00


Polymer Laboratories
Now a part of Varian, Inc.
www.polymerlabs.com


VARIAN

Appendiks figur 2 Figuren viser sertifikatet til den polymer baserte SPE-kolonnen fra Varian.

Appendiks C Ionebytterkapasitet til Bond Elut Jr fra Varian

Ionebytterkapasitet: $0,60 - 0,90 \text{ meq/g} = 0,60 - 0,90 \text{ mmol/g}$ for enverdige ioner.

Adsorbent: $500 \text{ mg} = 0,5 \text{ g}$

Antar molekylvekt: $100 \text{ g/mol} = 100 \text{ ng/nmol}$

Konsentrasjon av metallioner i løsning: $100 \mu\text{g/L} = 100 \text{ ng/mL}$

Prøvevolum: 20 mL

$$n = \frac{m}{M_w} = \frac{100 \text{ ng/mL} \cdot 20 \text{ mL}}{100 \text{ ng/nmol}} = 20 \text{ nmol}$$

20 mL prøve vil altså inneholde 20 nmol metall

$$0,60 \text{ meq/g} \cdot 0,5 \text{ g} = 0,60 \text{ mmol/g} \cdot 0,5 \text{ g} = 0,3 \text{ meq/g} = 0,3 \text{ mmol}$$

$$\text{Antall injeksjoner: } \frac{0,3 \text{ mmol}}{20 \text{ nmol}} = \frac{0,3 \text{ mmol}}{0,00002 \text{ mmol}} = 15000$$

$$0,90 \text{ meq/g} \cdot 0,5 \text{ g} = 0,90 \text{ mmol/g} \cdot 0,5 \text{ g} = 0,45 \text{ meq/g} = 0,45 \text{ mmol}$$

$$\text{Antall injeksjoner: } \frac{0,45 \text{ mmol}}{20 \text{ nmol}} = \frac{0,45 \text{ mmol}}{0,00002 \text{ mmol}} = 22500$$

Antall injeksjoner som kan foretas på SPE-kolonnen uten å overskride ionebytterkapasiteten er 15000-22500 injeksjoner.

Appendiks D Gjennomstrømningshastighet ved bruk av sprøyte

Verdier for gjennomstrømningshastighet ved bruk av sprøyte for prøve og eluering. 20 mL ble brukt, og tidene er målt i sekunder. Gjennomsnittet har blitt regnet om til mL/min nederst i tabellen.

Appendiks tabell 1 Tabellen viser verdiene for hvor lang tid prøve og elueringsmiddel bruker igjennom SPE-kolonnene når plastsprøyte på 20 mL blir benyttet.

Gjennomstrømningshastighet prøve, sekunder		Gjennomstrømningshastighet eluering, sekunder	
41,43	34,59	34,67	33,74
64,67	39,54	35,18	44,53
42,77	37,39	42,65	42,11
42,73	66,27	36,26	42,98
36,45	58,34	34,70	28,54
45,49	48,43	34,53	26,95
69,66	35,20	27,51	33,51
67,79	40,89	41,79	27,99
70,87	44,69	35,9	26,09
52,98	38,42	32,36	28,83
76,73	45,69	42,72	31,43
72,93	38,37	33,44	41,95
58,49	42,57	30,31	29,96
35,66	52,98	34,27	30,49
39,66	74,56	39,66	35,83
N=30		N=30	
\bar{x} =50,5 s		\bar{x} =34,7 s	
S_x =13,8 s		S_x =5,5 s	
23,8 mL/min		34,6 mL/min	

Appendiks E Holdbarheten til humus stamløsning

Det brukes statistikk for å se om humus stamløsning tåler å bli stående. Formler og tabellverdi er hentet fra Miller og Miller, 2005.

Det undersøkes to prøver med tre replikater. Det er ønskelig å se om det er noen signifikant forskjell mellom prøvene. Nullhypotese H_0 er: Det er ingen signifikant forskjell på prøvene.

Appendiks tabell 2 Tabellen viser verdiene fra DOC analysene.

Prøve 1: 13.04.07	Prøve 2: 24.04.07
326,32 mg/L	330,46 mg/L
326,32 mg/L	346,90 mg/L
330,40 mg/L	342,70 mg/L
$\bar{x}_1 = 332,71 \text{ mg/L}$	$\bar{x}_2 = 340,02 \text{ mg/L}$
$S_{x1} = 7,80$	$S_{x2} = 8,54$

Bruker formel (1):

$$S^2 = \frac{(n_1 - 1)S_{x1}^2 + (n_2 - 1)S_{x2}^2}{n_1 + n_2 - 2} \quad (1)$$

Setter inn og finner $S = 8,18$

Bruker formel (2) for å utføre en t -test:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (2)$$

Setter inn og finner $|t| = 1,09$. Antall frihetsgrader $(3 - 1) + (3 - 1) = 4$

$t_{\text{tabell}} = 2,78$

$t_{\text{tabell}} > t$

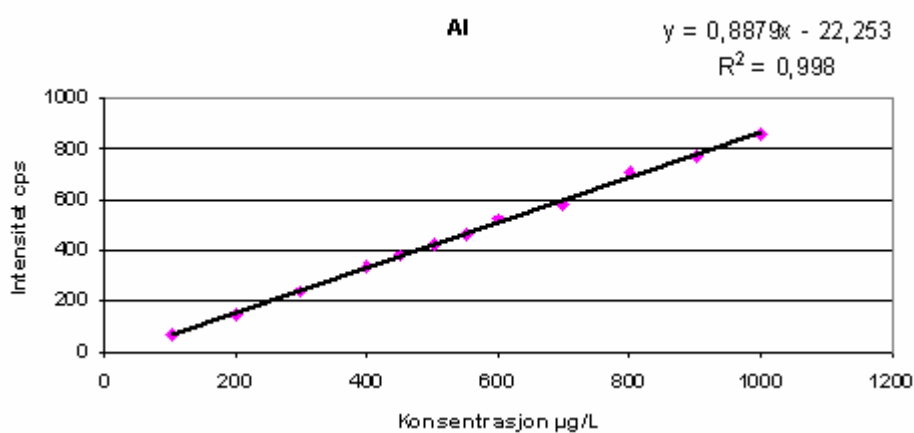
H_0 beholdes, det vil si at det er ikke signifikant forskjell mellom prøvene ved 5% nivå.

Appendiks F Verdier brukt for beregne nøyaktighet og presisjon i valideringen

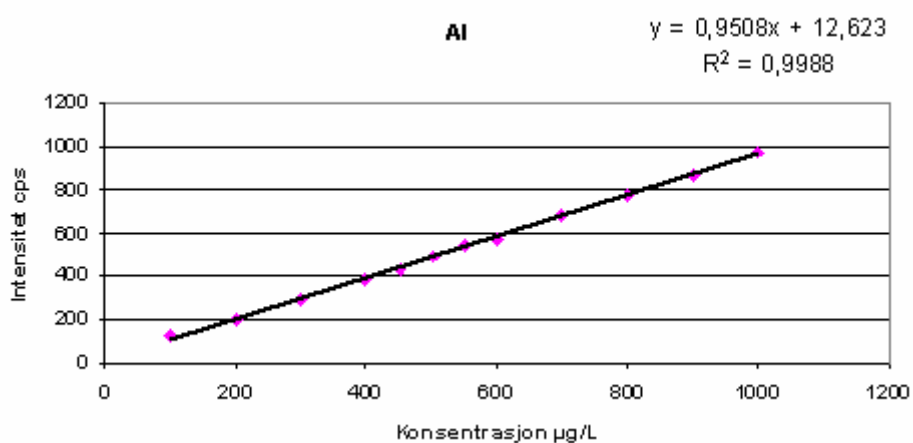
Appendiks tabell 3 Tabellen viser resultatene som har blitt brukt til å beregne nøyaktigheten i valideringen.

	Al	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	V
Replikat 1										
Dag 1	426	86	94	92	89	349	98	91	103	98
Dag 2	424	87	97	94	92	353	99	94	100	98
Dag 3	425	86	91	90	88	365	95	91	99	96
Replikat 2										
Dag 1	431	88	95	93	91	346	99	93	101	100
Dag 2	425	87	98	94	93	346	99	94	99	98
Dag 3	430	86	94	90	90	364	96	90	99	95
Replikat 3										
Dag 1	429	88	96	94	92	346	101	94	101	99
Dag 2	440	87	96	94	92	356	98	93	103	99
Dag 3	446	86	93	92	89	388	96	91	99	98
Replikat 4										
Dag 1	445	88	96	94	93	351	101	94	103	99
Dag 2	444	88	97	96	92	354	100	94	104	99
Dag 3	440	87	96	93	89	384	98	93	101	98
Replikat 5										
Dag 1	432	90	96	94	92	365	100	95	99	100
Dag 2	437	87	98	94	93	361	101	95	100	100
Dag 3	440	88	94	92	91	384	97	92	98	97
Replikat 6										
Dag 1	439	88	97	96	91	354	101	94	103	102
Dag 2	428	86	98	94	93	340	100	94	106	99
Dag 3	456	87	94	90	90	367	96	91	103	95
Gjennomsnitt										
µg/L	435	87,2	95,6	93,1	91,1	360	98,6	92,9	101	98,3
SD µg/L	8,98	1,06	1,92	1,81	1,60	14,1	1,97	1,55	2,23	1,78
RSD %	2,1	1,2	2,0	1,9	1,8	3,9	2,0	1,7	2,2	1,8
Recovery %	87,1	87,2	95,6	93,1	91,1	71,9	98,6	92,9	101	98,3

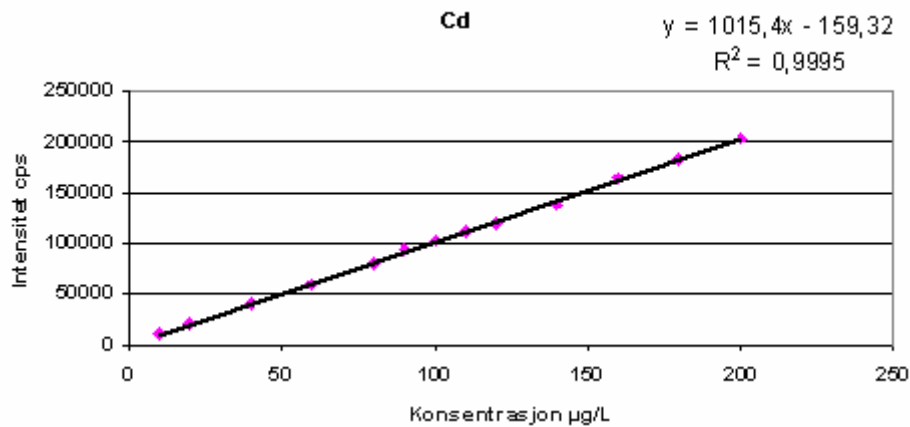
Appendiks G Regresjonslinjene viser lineariteten til metoden og instrumentet



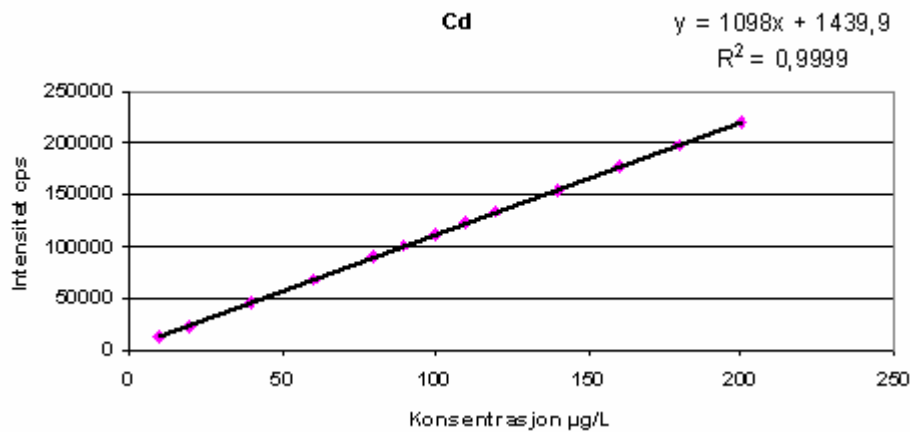
Appendiks figur 3 Regresjonslinje for Al 396,152 nm når lineariteten til metoden bestemmes.



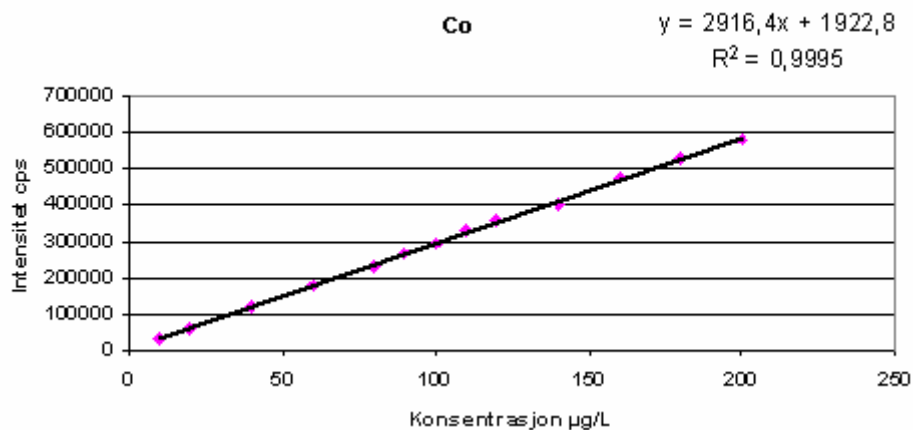
Appendiks figur 4 Regresjonslinje for Al 396,152 nm når lineariteten til instrumentet bestemmes.



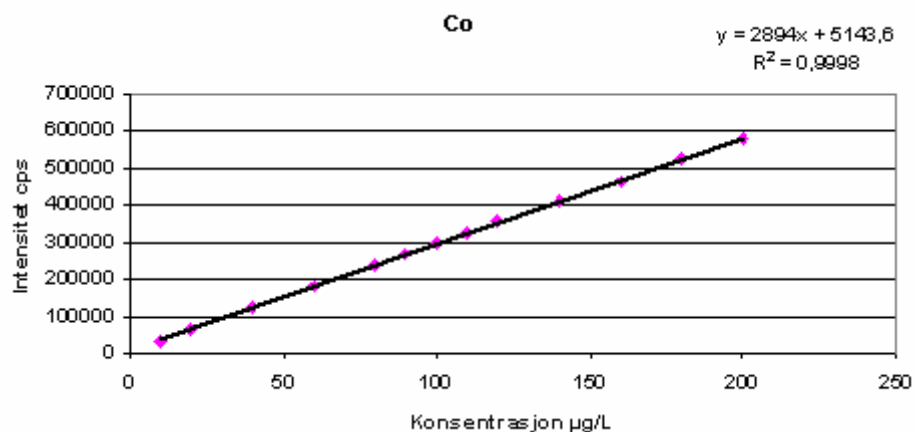
Appendiks figur 5 Regresjonslinje for ^{114}Cd når lineariteten til metoden bestemmes.



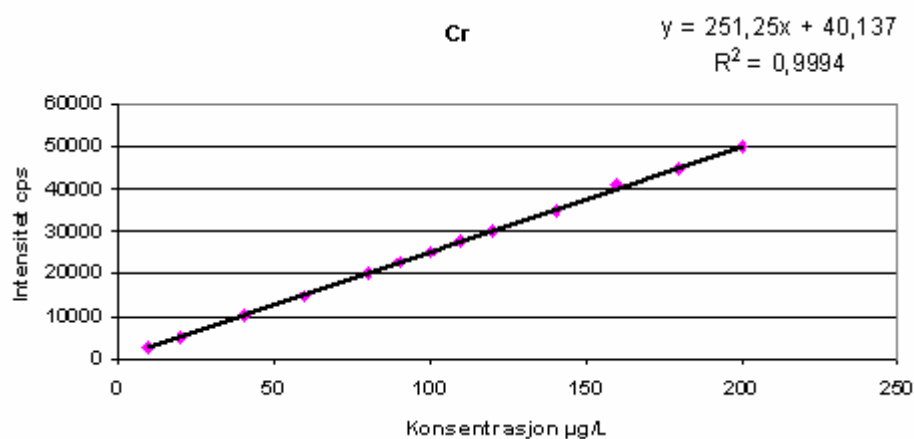
Appendiks figur 6 Regresjonslinje for ^{114}Cd når lineariteten til instrumentet bestemmes.



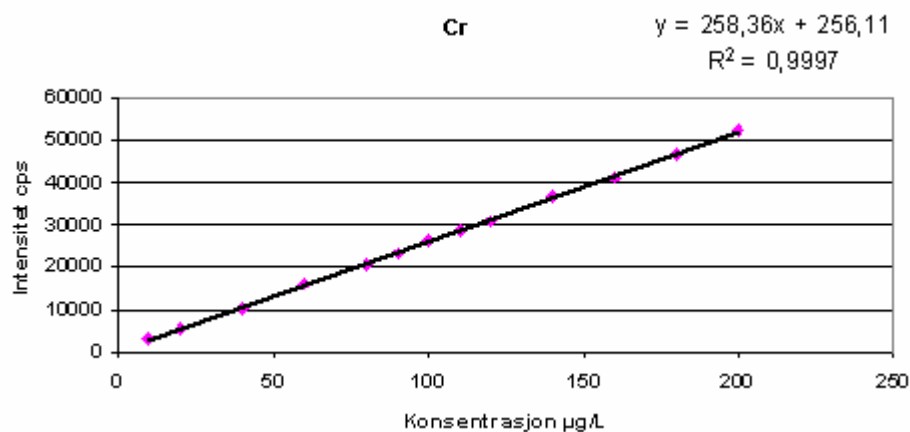
Appendiks figur 7 Regresjonslinje for ^{59}Co når lineariteten til metoden bestemmes.



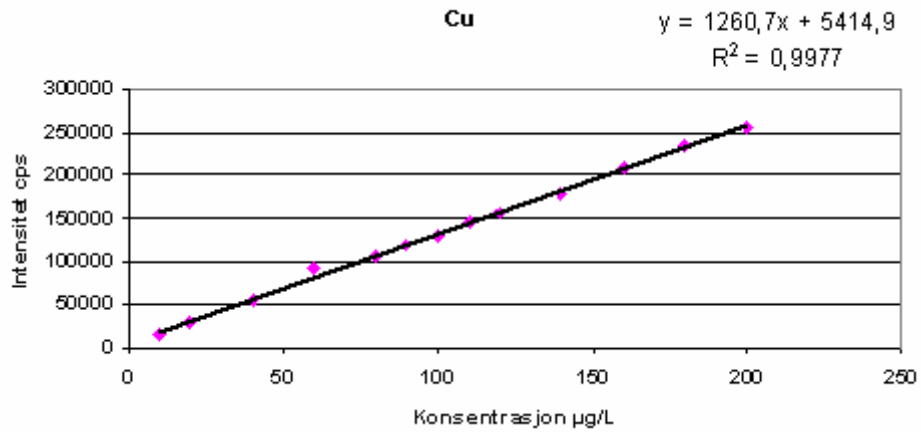
Appendiks figur 8 Regresjonslinje for ⁵⁹Co når lineariteten til instrumentet bestemmes.



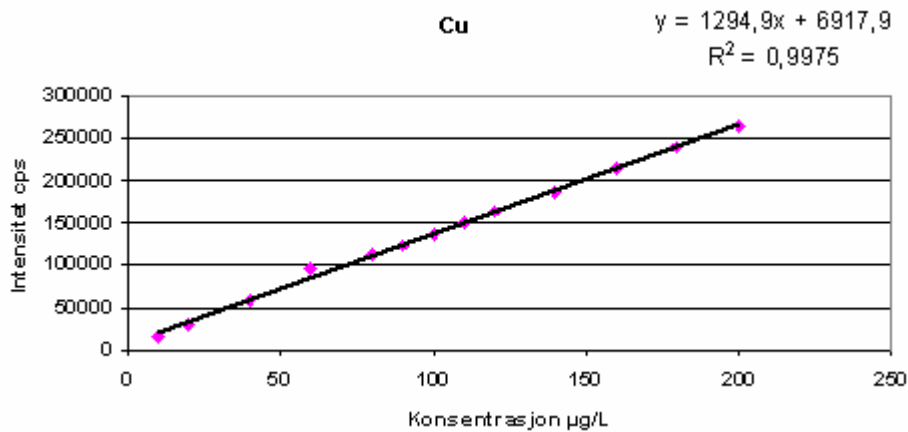
Appendiks figur 9 Regresjonslinje for ⁵³Cr når lineariteten til metoden bestemmes.



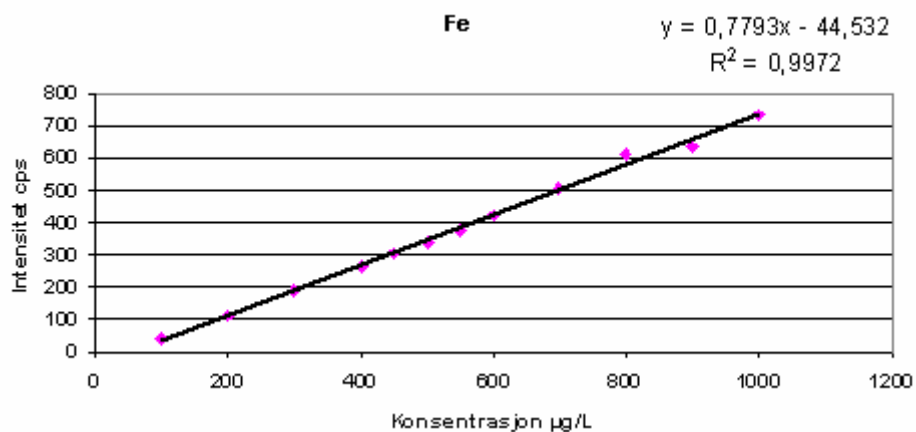
Appendiks figur 10 Regresjonslinje for ⁵³Cr når lineariteten til instrumentet bestemmes.



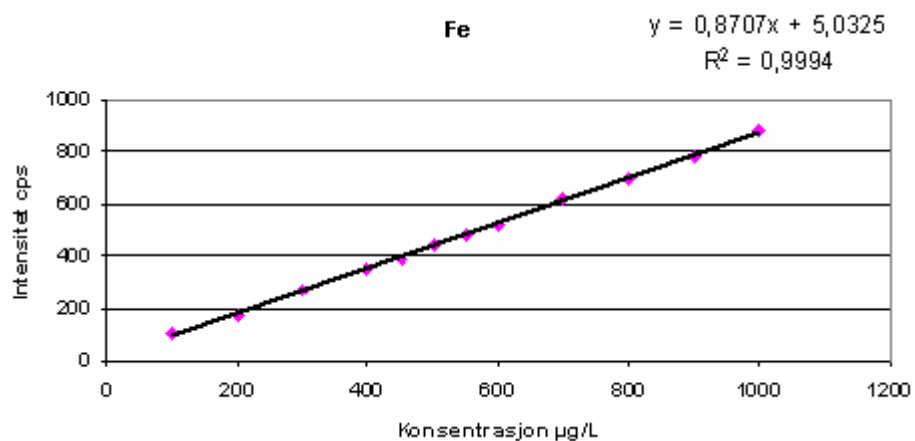
Appendiks figur 11 Regresjonslinje for ^{63}Cu når lineariteten til metoden bestemmes.



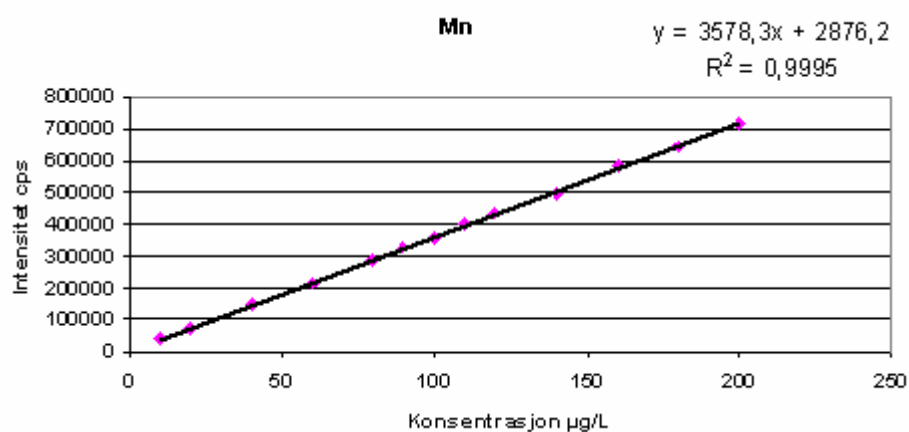
Appendiks figur 12 Regresjonslinje for ^{63}Cu når lineariteten til instrumentet bestemmes.



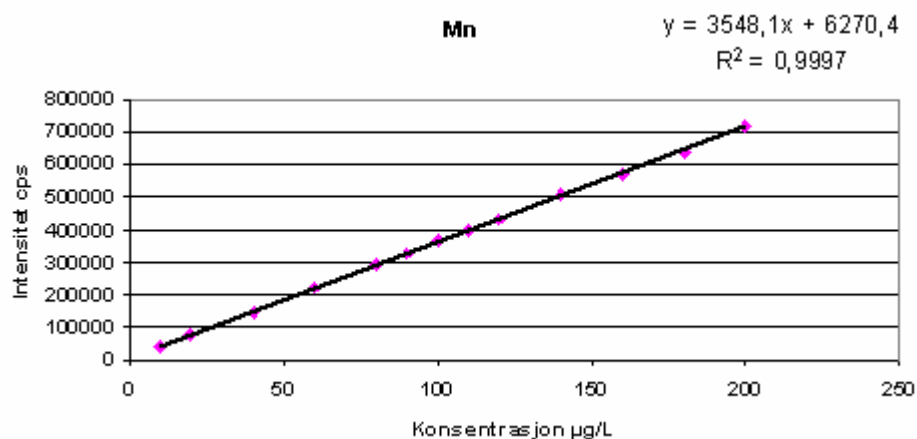
Appendiks figur 13 Regresjonslinje for Fe 238,204 nm når lineariteten til metoden bestemmes.



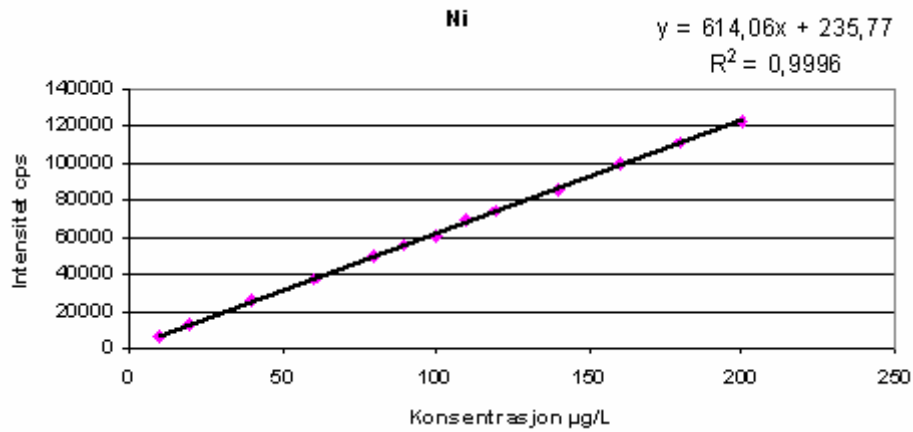
Appendiks figur 14 Regresjonslinje for Fe 238,204 nm når lineariteten til instrumentet bestemmes.



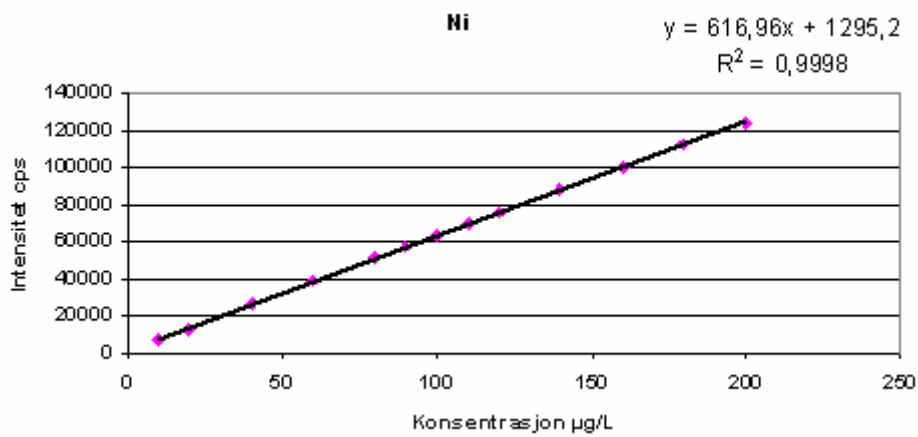
Appendiks figur 15 Regresjonslinje for ^{55}Mn når lineariteten til metoden bestemmes.



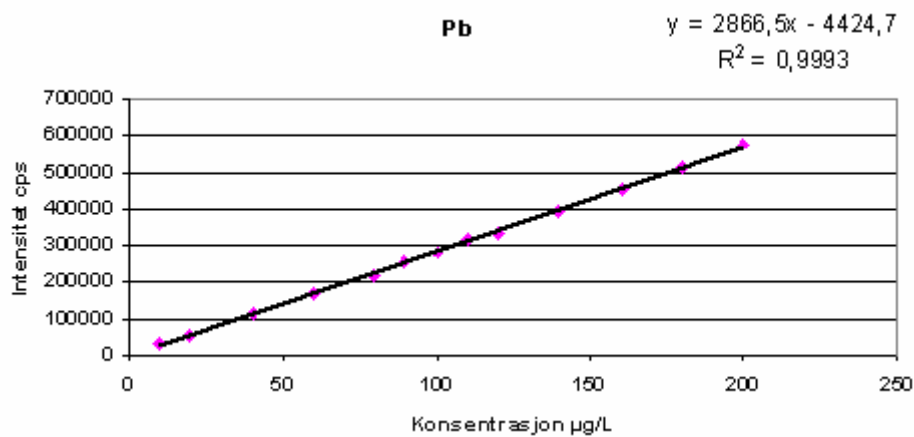
Appendiks figur 16 Regresjonslinje for ^{55}Mn når lineariteten til instrumentet bestemmes.



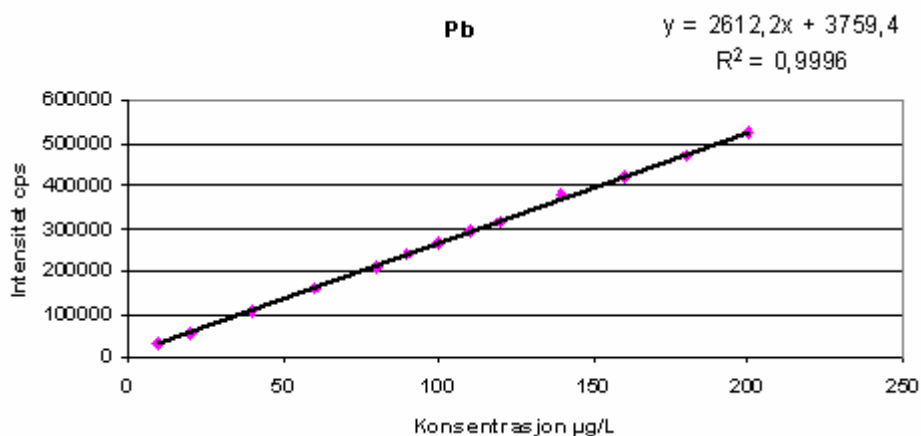
Appendiks figur 17 Regresjonslinje for ^{60}Ni når lineariteten til metoden bestemmes.



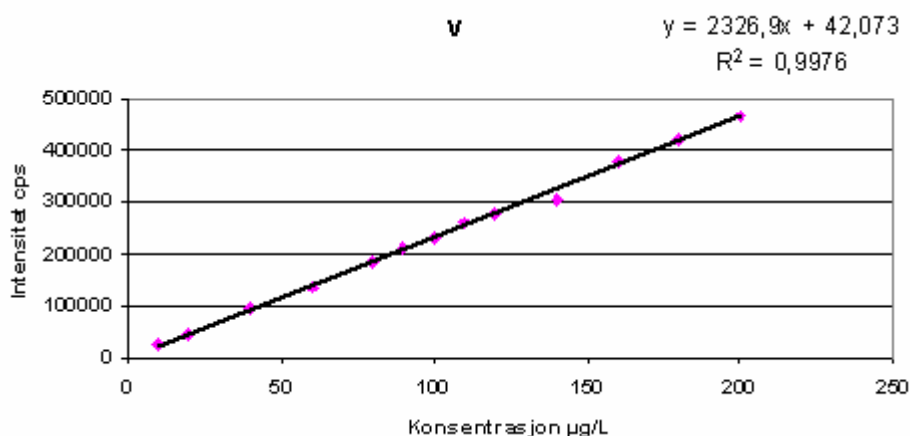
Appendiks figur 18 Regresjonslinje for ^{60}Ni når lineariteten til instrumentet bestemmes.



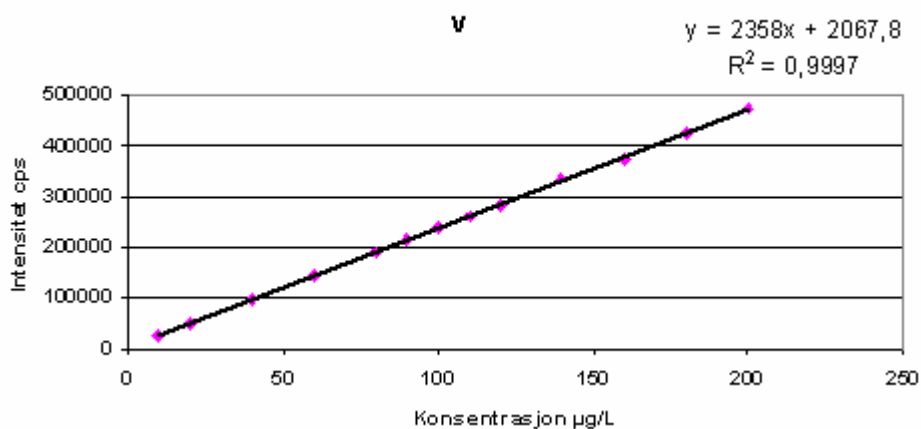
Appendiks figur 19 Regresjonslinje for ^{208}Pb når lineariteten til metoden bestemmes.



Appendiks figur 20 Regresjonslinje for ^{208}Pb når lineariteten til instrumentet bestemmes.

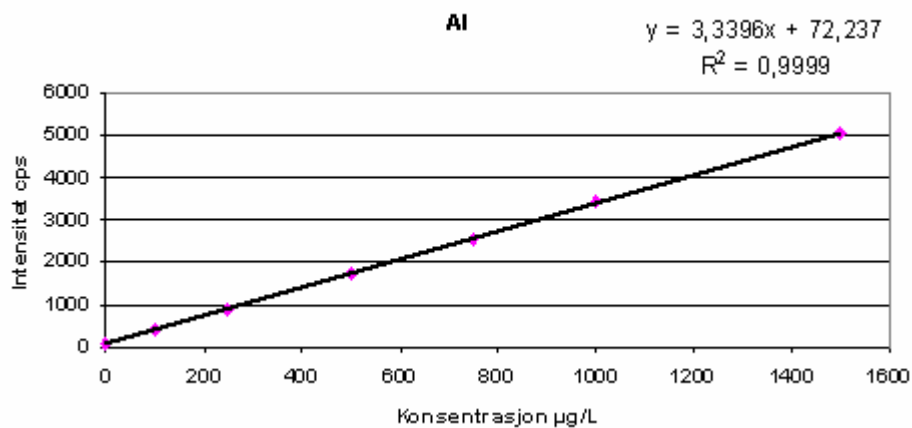


Appendiks figur 21 Regresjonslinje for ^{51}V når lineariteten til metoden bestemmes.

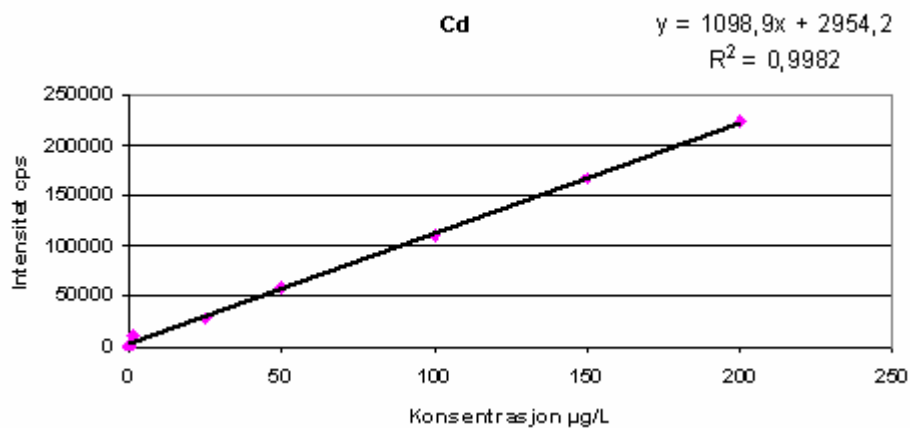


Appendiks figur 22 Regresjonslinje for ^{51}V når lineariteten til instrumentet bestemmes.

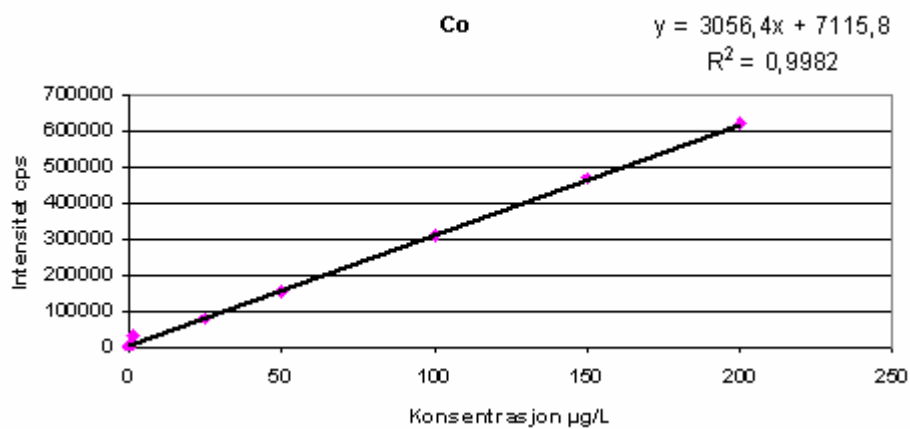
Appendiks H Kalibreringskurver brukt til beregning av deteksjon- og kvantifiseringsgrenser



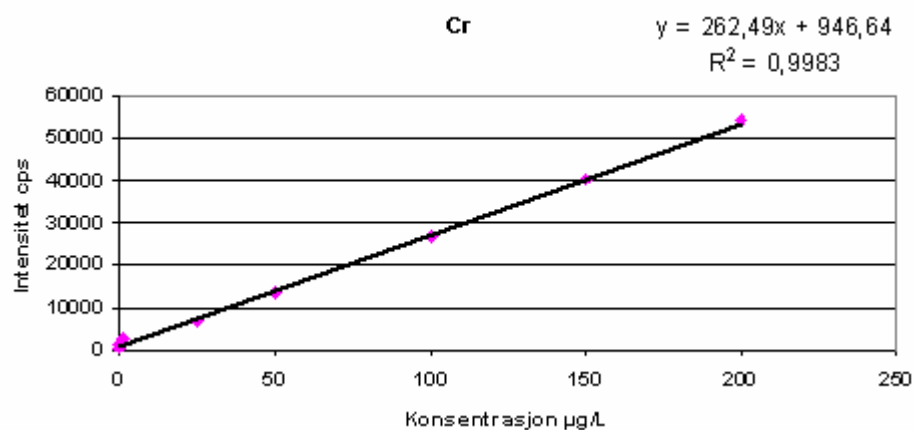
Appendiks figur 23 Kalibreringskurve Al 396,152 nm.



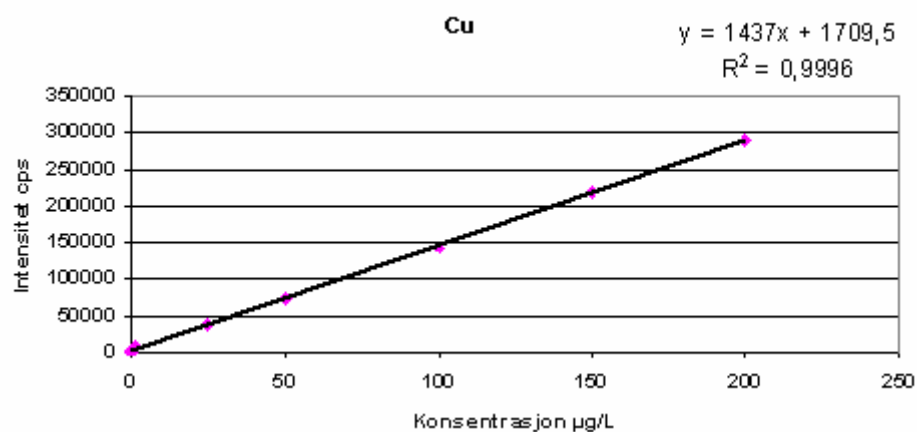
Appendiks figur 24 Kalibreringskurve ^{114}Cd .



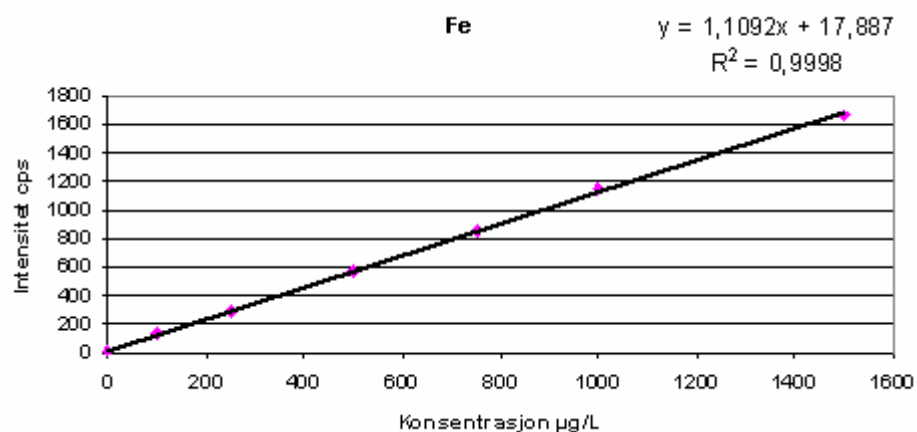
Appendiks figur 25 Kalibreringskurve ^{59}Co .



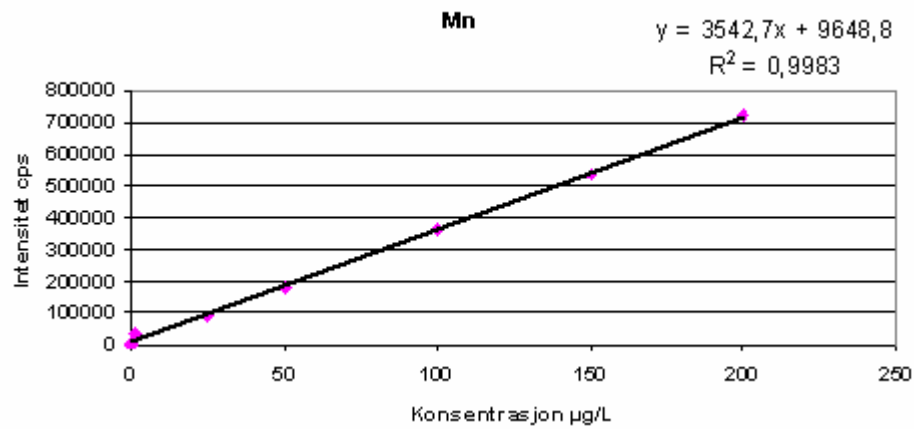
Appendiks figur 26 Kalibreringskurve ^{53}Cr .



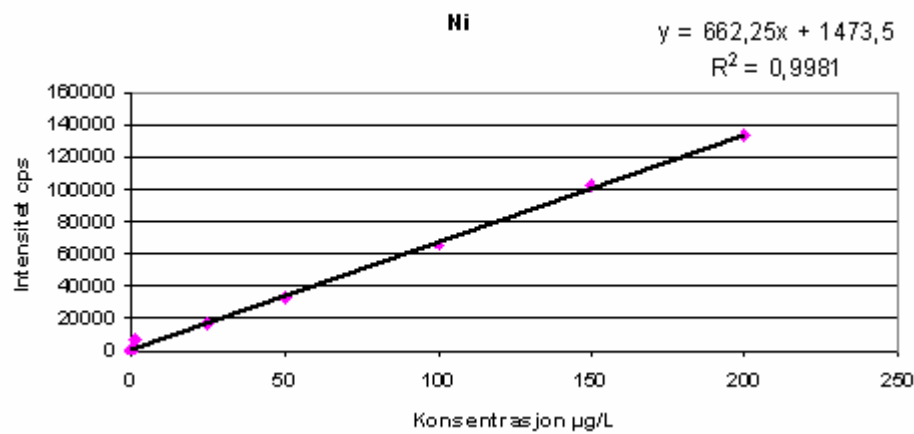
Appendiks figur 27 Kalibreringskurve ^{63}Cu .



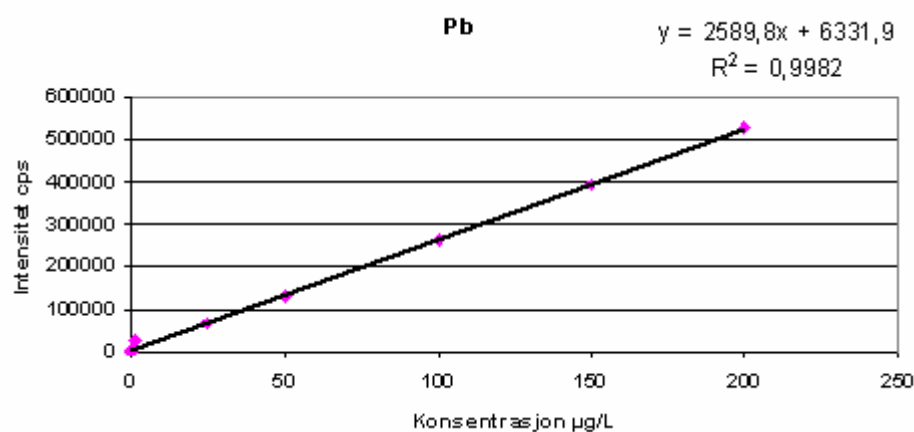
Appendiks figur 28 Kalibreringskurve Fe 238,204 nm.



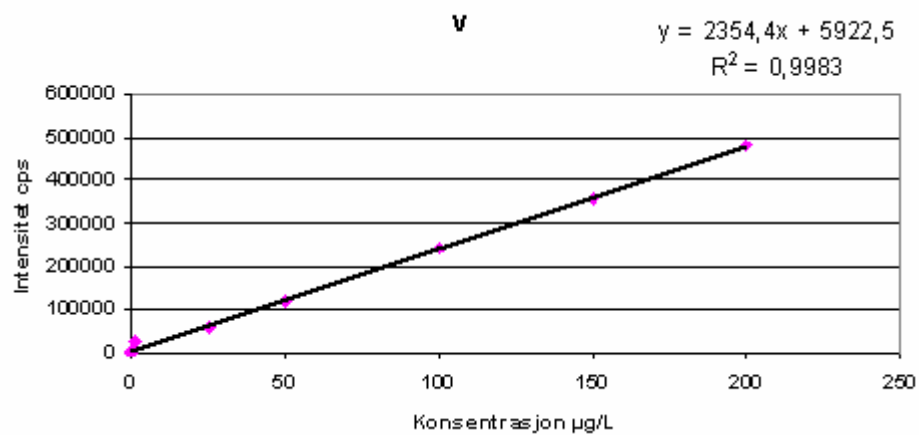
Appendiks figur 29 Kalibreringskurve ^{55}Mn .



Appendiks figur 30 Kalibreringskurve ^{60}Ni .



Appendiks figur 31 Kalibreringskurve ^{208}Pb .



Appendiks figur 32 Kalibreringskurve ^{51}V .